

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 31/40, 49/00		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/62512 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 9. Dezember 1999 (09.12.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/03514			(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(22) Internationales Anmeldedatum: 25. Mai 1999 (25.05.99)			
(30) Prioritätsdaten: 198 25 512.8	2. Juni 1998 (02.06.98)	DE	
(71) Anmelder: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müllerstrasse 178, D-13342 Berlin (DE).			Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
(72) Erfinder: PLATZEK, Johannes; Grotkauer Strasse 55, D-12621 Berlin (DE). NIEDBALLA, Ulrich; Goßlerstrasse 28a, D-14195 Berlin (DE). RADÜCHEL, Bernd; Gollanczstrasse 132, D-13465 Berlin (DE). EBERT, Wolfgang; Ernst-Thälmann-Platz 2, D-15831 Mahlow (DE). WEINMANN, Hanns-Joachim; Westhofener Weg 23, D-14129 Berlin (DE). FRENZEL, Thomas; Paul-Schneider-Strasse 41, D-12247 Berlin (DE).			
(54) Title: 3-, 8-SUBSTITUTED DEUTEROPORPHYRIN DERIVATIVES, PHARMACEUTICAL SUBSTANCES CONTAINING THE SAME, METHOD FOR THE PRODUCTION AND USE THEREOF IN PHOTODYNAMIC THERAPY AND MRI DIAGNOSIS			
(54) Bezeichnung: 3-, 8-SUBSTITUIERTE DEUTEROPORPHYRINDERivate, DIESE ENHALTENDE PHARMAZEUTISCHE MITTEL, VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG UND IHRE VERWENDUNG IN DER PHOTODYNAMISCHEN THERAPIE UND MRI-DIAGNOSTIK			
(57) Abstract			
The invention relates to 3-, 8-substituted deuteroporphyrin derivatives with various substituents in positions 13 and 17 of the porphyrin skeleton. The invention also relates to pharmaceutical substances containing said compounds and to the use thereof as a therapeutic control in photodynamic therapy (PDT) and MRI diagnosis. The invention further relates to methods to produce these compounds and substances.			
(57) Zusammenfassung			
Die Erfindung betrifft 3-, 8-substituierte Deuteroporphyrinderivate mit verschiedenen Substituenten in den Positionen 13 und 17 des Porphyringerüstes, diese Verbindungen enthaltende pharmazeutische Mittel, ihre Verwendung in der photodynamischen Therapie (PDT) und MRI-Diagnostik als Therapiekontrolle sowie Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen und Mittel.			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		

**3-, 8- substituierte Deuteroporphyrinderivate, diese enthaltende pharmazeutische
Mittel, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung in der
photodynamischen Therapie und MRI-Diagnostik**

5

Die Erfindung betrifft den in den Patentansprüchen gekennzeichneten Gegenstand, das heißt 3-,8- substituierte Deuteroporphyrinderivate, ihre Verwendung in der photodynamischen Therapie und MRI-Diagnostik, diese Verbindungen enthaltende pharmazeutische Mittel, sowie Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen und
10 Mittel.

Ein vielversprechendes Verfahren bei der Behandlung von Erkrankungen besonders von Tumoren in oberflächennahen Geweben oder in Hohlorganen (Blase, Speiseröhre) ist die Photodynamische Therapie (PDT). Bei dieser Technik wird ein
15 photosensibilisierender Farbstoff eingesetzt, der sich im Tumor anreichert. Wird dann bestrahlt, so wandelt sich unter dem Einfluß des Farbstoffes Sauerstoff in die hochreaktive Form Singulett-Sauerstoff ${}^1\text{O}_2$ um. Diese Sauerstoff-Form ist cytotoxisch und tötet das sich in ihrer Umgebung befindliche Gewebe (bevorzugt Tumorgewebe) ab.

20

Zu den Stoffklassen, die für die PDT geeignet sind, gehören auch die Porphyrine: Sie reichern sich in Tumoren an und absorbieren Licht in einem Bereich, in dem lebendes Gewebe noch ausreichend durchlässig ist, nämlich zwischen 700 – 900 nm. Darüber hinaus zeigen die Porphyrine noch weitere für die PDT wertvolle Eigenschaften: hohe
25 Ausbeuten an dem angeregten Triplett-Zustand, eine lange Lebensdauer dieses Zustandes und eine gute Energieübertragung auf den Sauerstoff unter Bildung von ${}^1\text{O}_2$.

Von den Porphyrinen (WO 92/06097, WO 97/20846; EP 0 811626; US 5633275, US 5654423, US 5675001, US 5703230, US 5705622) und ihren Derivaten ist das
30 Photofrin II (US 4882234) bereits im Handel, andere wiederum befinden sich in der klinischen Erprobung. Photofrin II ist ein Gemisch aus Oligomeren des

Hematoporphyrins, wobei Ester- und Etherbindungen die Untereinheiten miteinander verbinden.

In klinischer Phase II befindet sich das BPDMA (Verteporphin, WO 97/48393), ein 5 Benzoporphyrinderivat. Diese Verbindung wird gegen Hautkrebs, Psoriasis und besonders erfolgreich bei der altersbedingten Makuladegeneration (AMD), einer Erkrankung, die zur Blindheit führen kann, eingesetzt.

Für die Behandlung von Speiseröhren- bzw. Bronchialcarcinomen wird das mTHPC 10 (WO 95/29915) untersucht. Ebenfalls zur Gruppe der Chlorine gehört das MACE, ein Monoaspartyl-chlorin (CA 2121716; JP 09071531). Die Patentliteratur nennt eine Gruppe für die PDT geeigneter Chlorine (s. WO 97/19081, WO 97/32885; EP 0 569113; US 5587394, US 5648485, US 5693632).

15 Neben den bereits genannten Verbindungen werden z. Zt. auch prophyrinähnliche ungesättigte Systeme wie das porphyrinisomere Porphycen (WO 92/12636, WO 93/00087, WO 96/31451, WO 96/31452; US 5610175, US 5637608), sowie Phthalocyanine (US 5686439), Texaphyrine (WO 95/10307; US 5591422, US 20 5594136, US 5599923, US 5599928, US 5622946) und Purpurine untersucht. Gemeinsames Strukturmerkmal der drei zuletzt genannten Klassen ist, daß sie Metallderivate sind. Durch die Metallierung wird die Absorptionsbande im langwelligen Bereich häufig verschoben.

25 Paramagnetische Metallionen haben einen negativen Effekt auf die Lebensdauer des Triplet-Zustandes. Die Verkürzung der Lebensdauer kann den Faktor 10^3 übersteigen. Der Triplet-Zustand ist jedoch verantwortlich für die Energieübertragung auf den Sauerstoff: wenn die Lebensdauer zu gering wird, kann kein Singulett-Sauerstoff mehr gebildet werden.

30 Diamagnetische Metallionen dagegen stabilisieren den Triplet-Zustand und erhöhen dadurch die Quantenausbeute an $^1\text{O}_2$. So finden sich Zink, Zinn, Cadmium,

Aluminium, Lutetium, Indium und Yttrium als Zentralionen in photosensibilisierenden π -Systemen.

5 Zn-Phthalocyanin wird als Wirkstoff gegen die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) untersucht. Ein sulfonierte Phthalocyanin wird als Aluminiumderivat auf seine Wirksamkeit (Photosense, Rußland) geprüft.

Das Zinn-Ethiopurpurin (WO 96/32094) wird dagegen auf seine Wirksamkeit gegen das Kaposi's Sarkom untersucht.

10 Als Vertreter der erweiterten Porphyrine muß das Lu-Texaphyrin genannt werden. Die Verbindung hat einen sehr langlebigen Triplet-Zustand und liefert Singulett-Sauerstoff in Quantenausbeuten von über 70%. Sie wird auf ihre Verwendbarkeit als Mittel bei der Restenosebehandlung getestet und befindet sich bereits in klinischer Phase I.

15 Mit den erweiterten Porphyrinen sind auch die Rubyrine (US 5622945), Sapphyrine (US 5457195) und Porphyrazine (US 5675001) zu nennen, die aufgrund ihrer Absorption bei 620 – 690 nm ebenfalls für die PDT geeignet sind.

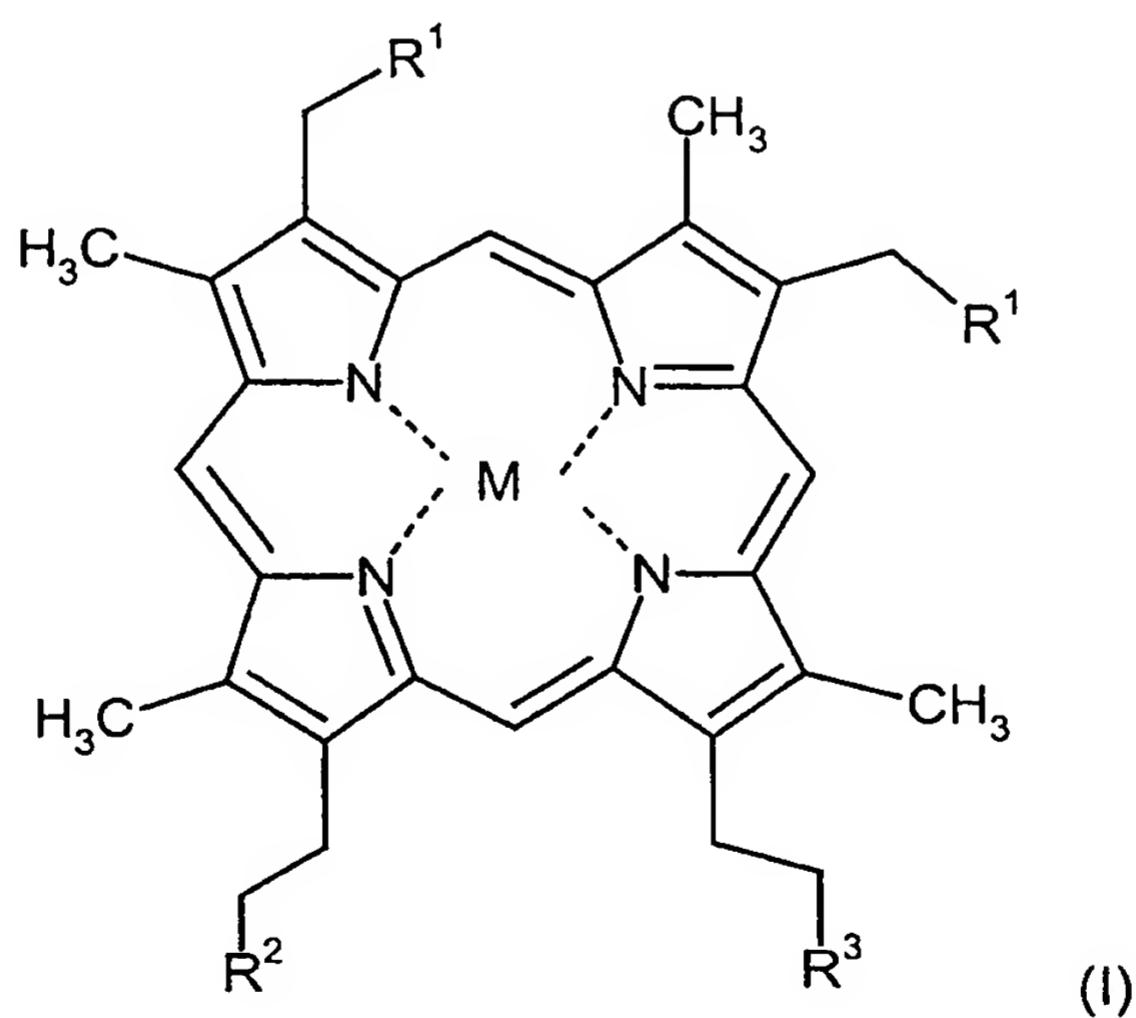
20 Eine sehr umfangreiche Beschreibung der chemischen Synthesen und der Eigenschaften hinsichtlich einer Eignung für die Photodynamische Therapie befindet sich in Chem. Rev. 1997, 97, 2267 – 2340, A. Jasat und D. Dolphin, Expanded Porphyrins and Their Heterologs.

25 Wie bereits erwähnt, macht sich die toxische Wirkung der Photosensitizer dort bemerkbar, wo Wirkstoff und Licht zusammentreffen. Das bedeutet, daß eine Anreicherung oder ein längerer Aufenthalt in der Haut zu einer unerwünschten Photosensibilisierung der Haut führt. Die Dauer der Sensibilisierung reicht von einigen Tagen (MACE, BPDMA ~ 3 Tage) über einige Wochen (m-THPC ~ 3 Wochen) bis in 30 den Monatsbereich (Photofrin II ~ 30 d). In dieser Zeit muß Lichteinwirkung sorgfältig vermieden werden.

Ein gravierender Nachteil der bisher für die PDT verwendeten, oben genannten Verbindungen ist, daß sie nur für die Therapie geeignet sind, eine gleichzeitige MRI-diagnostische Kontrolle des Therapieerfolges ist mit ihnen nicht möglich. Hierfür 5 ist die Applikation einer weiteren, paramagnetischen Substanz erforderlich, die zudem eine möglichst gleiche Bioverteilung wie das Therapeutikum aufweisen muß. Dieses Erfordernis ist häufig nicht zu erfüllen.

Es besteht daher ein Bedarf an MRI-diagnostischen Mitteln für die Therapie-Kontrolle 10 der PDT. Ideal wären Verbindungen, die sowohl für die PDT als auch für die MRI-diagnostische Therapiekontrolle geeignet sind.

Es wurde gefunden, daß überraschenderweise Porphyrin-Komplexe bestehend aus einem Liganden der allgemeinen Formel I



sowie mindestens einem Ion eines Elementes der Ordnungszahl 20-32, 37-39, 42-51 oder 57-83, worin

M für zwei Wasserstoffatome oder ein diamagnetisches Metall,

R¹ für ein Wasserstoffatom, für einen geradkettigen C₁-C₆-Alkylrest, einen C₇-C₁₂-Aralkylrest oder für eine Gruppe OR' worin

R' ein Wasserstoffatom oder ein C₁-C₃-Alkylrest ist, steht,

R² für R³, eine Gruppe -CO-Z oder eine Gruppe -(NH)₀-(A)_q-NH-D steht, worin

Z eine Gruppe -OL ist, mit L in der Bedeutung eines anorganischen oder organischen Kations oder eines C₁-C₄-Alkylrestes ist,

A eine Phenoxy- oder eine durch ein oder mehrere Sauerstoffatome unterbrochene C₁-C₁₂-Alkylen- oder C₇-C₁₂ Aralkylengruppe bedeutet,

o und q unabhängig voneinander die Ziffern 0 oder 1 bedeuten und

D ein Wasserstoffatom oder eine Gruppe -CO-A-(COOL)₀-(H)_m bedeutet, mit m gleich 0 oder 1 und unter der Maßgabe, daß die Summe aus m und o gleich 1 ist,

R³ für eine Gruppe -(C=Q)(NR⁴)₀-(A)_q-(NR⁵)-K steht,

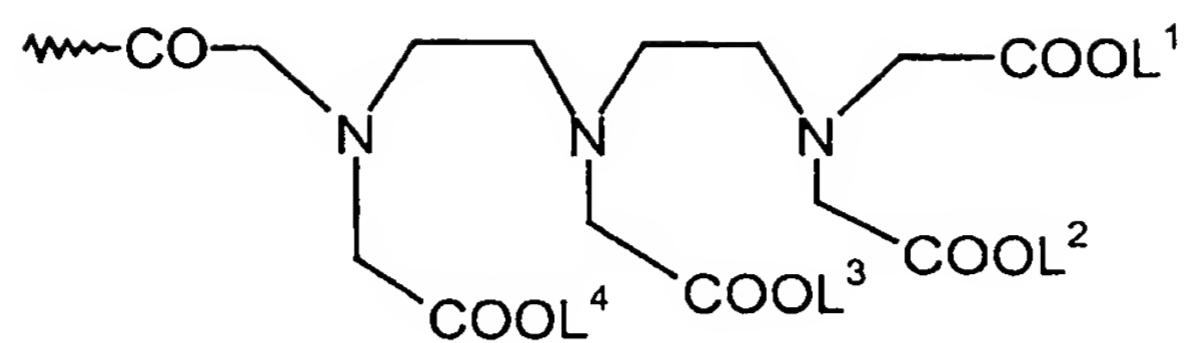
worin Q für ein Sauerstoffatom oder für zwei Wasserstoffatome steht,

R⁴ eine Gruppe -(A)_q-H bedeutet und

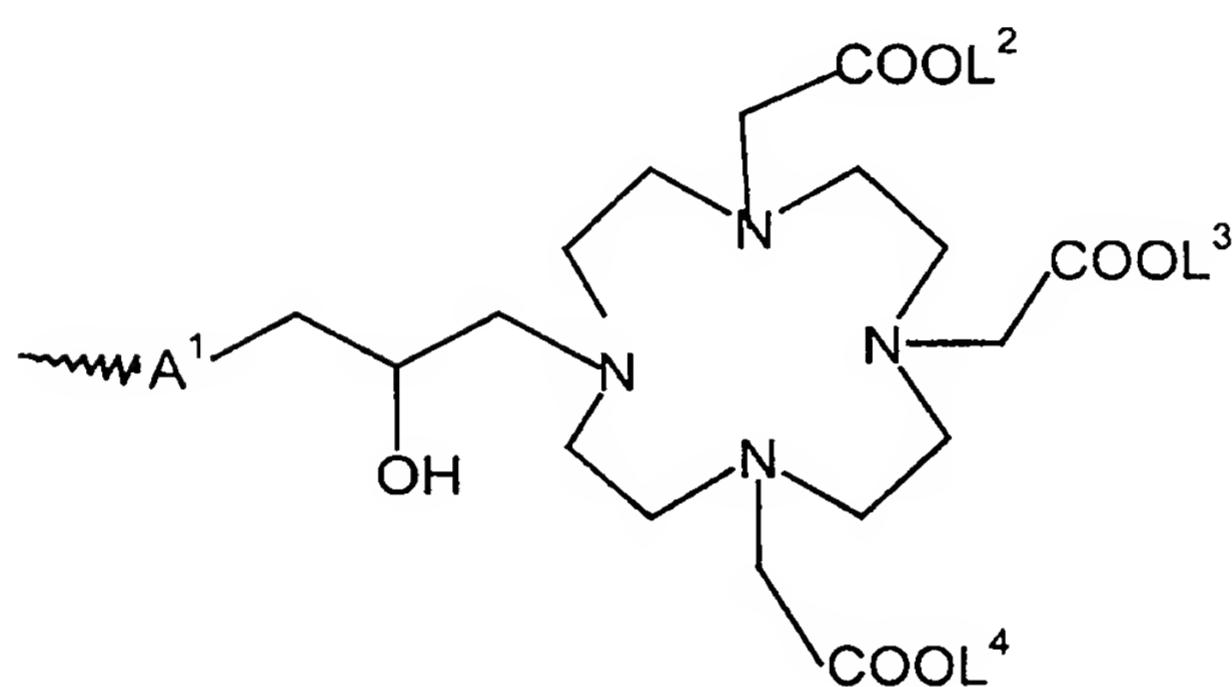
K einen Komplexbildner der allgemeinen Formel (IIa), (IIb), (IIc), (IId) oder (IIe) bedeutet, wobei R⁵ für den Fall, daß K ein Komplexbildner der Formel (IIa) ist die gleiche Bedeutung wie R⁴ hat und R⁵ für den Fall, daß K ein Komplexbildner der Formel (IIb), (IIc), (IId) oder (IIe) ist, die gleiche Bedeutung wie D hat,

mit der Maßgabe, daß eine direkte Sauerstoff-Stickstoff Bindung nicht zugelassen ist,

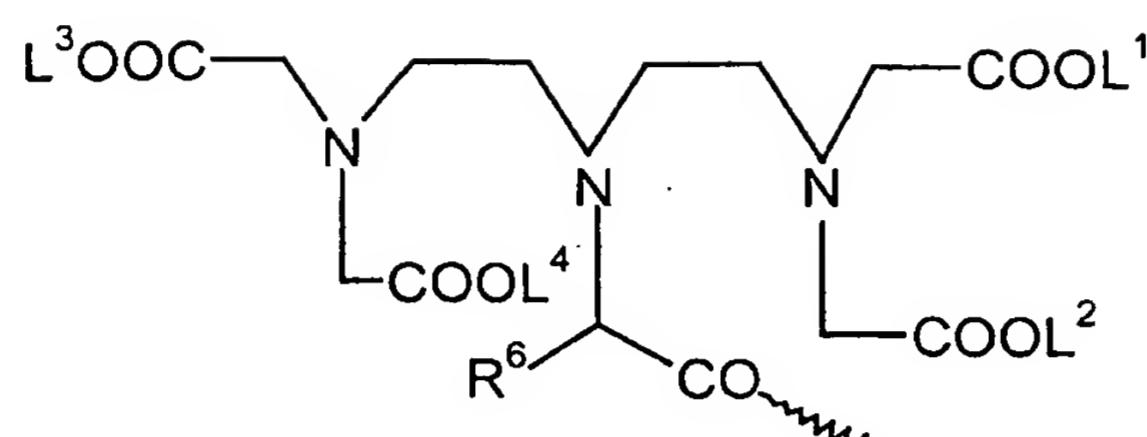
und K für einen Komplexbildner der allgemeinen Formel (IIa), (IIb), (IIc), (IId) oder (IIe)



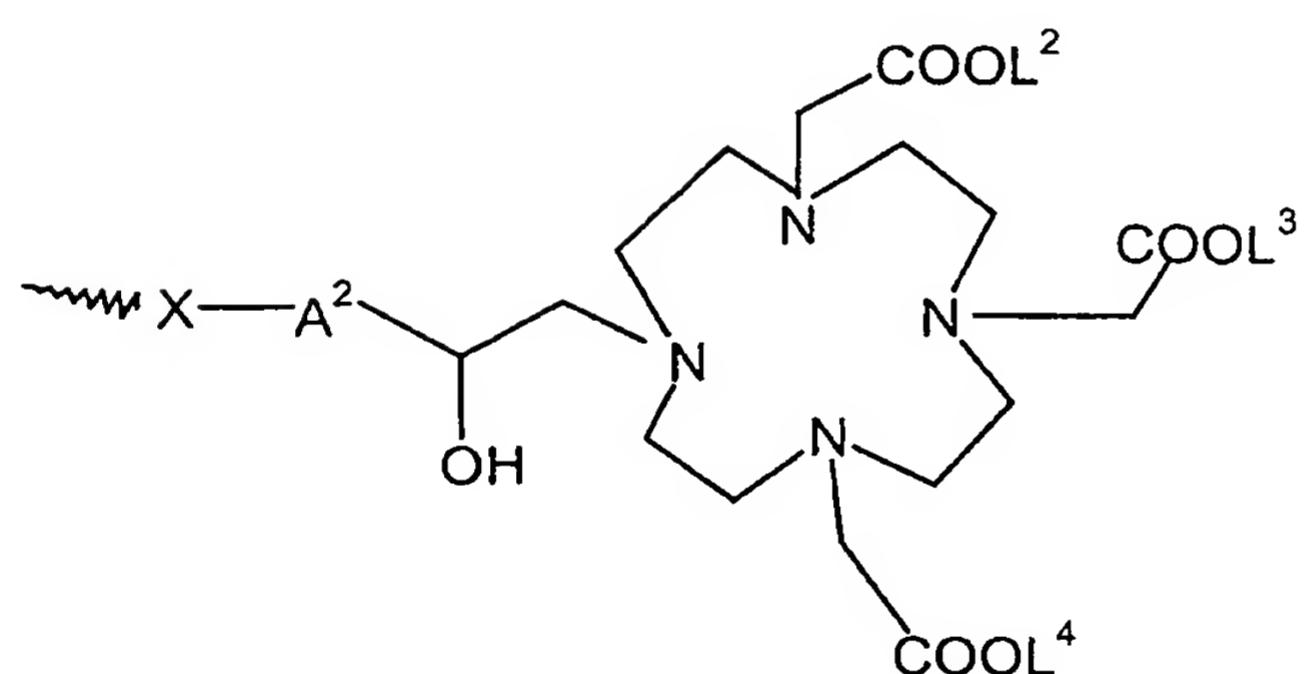
(IIa)



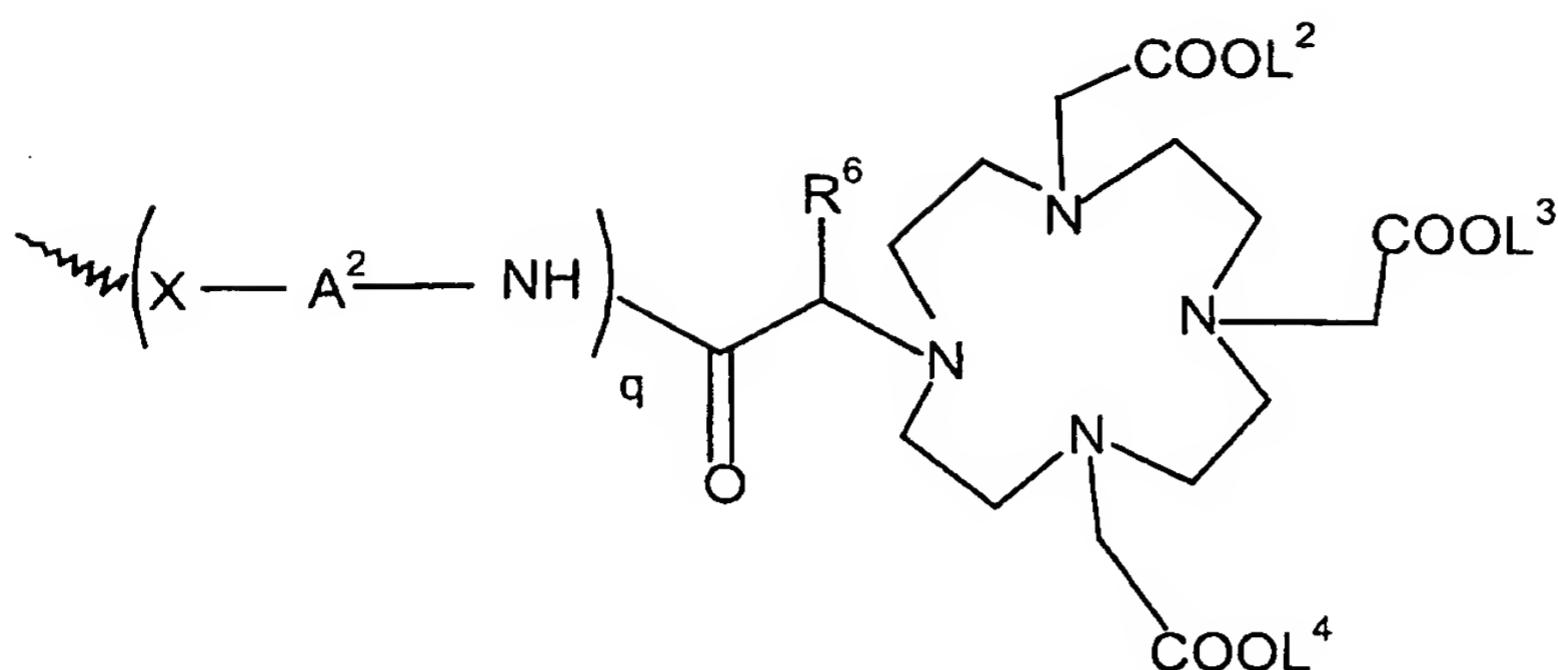
(IIb),



(IIc),



(IId),



(IIe),

5 steht,
 worin
 q die oben angegebene Bedeutung hat,
 A¹ die für A angegebene Bedeutung hat,
 R⁶ für ein Wasserstoffatom, eine geradkettige oder verzweigte C₁-C₇-
 10 Alkylgruppe,
 eine Phenyl- oder Benzylgruppe,
 A² für eine Phenyl-, -CH₂-NHCO-CH₂-CH (CH₂COOH) -C₆H₄-, Phenylenoxy-
 oder eine gegebenenfalls durch ein oder mehrere Sauerstoffatome,
 15 1 bis 3-NHCO-, 1 bis 3 -CONH-gruppen unterbrochene und/oder mit
 1 bis 3-(CH₂)₀₋₅COOH-Gruppen substituierte C₁-C₁₂-Alkylen- oder C₇-C₁₂-
 Alkylengruppe,
 X für eine -CO- oder NHCS-gruppe und
 L¹, L², L³ und L⁴ unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder ein
 Metallionenäquivalent eines Elements der oben genannten Ordnungszahl steht,
 20 unter den Maßgaben, daß mindestens zwei dieser Substituenten für
 Metallionenäquivalente stehen, und daß zum Ausgleich gegebenenfalls
 vorhandener Ladungen im Metallocporphyrin weitere Anionen vorhanden sind
 und worin freie, nicht zur Komplexierung benötigte Carbonsäuregruppen auch

als Salze mit physiologisch verträglich anorganischen und/oder organischen Kationen oder als Ester oder als Amide vorliegen können, überraschenderweise sowohl für die PDT als auch für die MRI-diagnostische Therapiekontrolle geeignet sind.

5

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I enthalten paramagnetische Ionen und sind für die Verwendung in der MRI-Diagnostik geeignet.

Überraschend ist jedoch, daß trotz des Vorhandenseins dieser Ionen im Molekül die Quantenausbeute an Triplet-Zustand so hoch ist, daß genügend Singlett-Sauerstoff

10 erzeugt wird, um eine erfolgreiche PDT zu betreiben. Nach der allgemein akzeptierten Auffassung von „long distance – electron/energy transfer“ Vorgängen (Photoprocesses in Transition Metal Complexes, Biosystems and other Molecules: Experiment and Theory, Herausgeber Elise Kochanski, Kluwer Academic Publishers, NATO DSI Series, p. 375;

15 Photoinduced Electron Transfer, Vol. 1-4, Herausgeber M. A. Fox, M. Charon, Elsevir, New York 1988;

M. D. Ward, Chem. Soc. Rev. 1997, 26, 365; T. Hayashi und H. Ogoshi, Chem. Soc. Rev. 1997, 26, 355; H. Dugas, Bioinorganic Chemistry, Springer Verlag, New York 1989; P. Tecilla et al., J. Am. Chem. Soc. 1990, 112, 9408; Y. Aoyama et al., J.

20 Am. Chem. Soc. 1991, 113, 6233) wäre eine starke Störung des Triplet-Zustandes – eine drastische Verkürzung seiner Lebensdauer – zu erwarten gewesen; dieses um so mehr, da bekannt ist, daß eine Wechselwirkung photoaktiver Zentren in Molekülen mit Donor- oder Akzeptorstellen selbst über Wasserstoffbrücken erfolgt, während in den Verbindungen der allgemeinen Formel I sogar kovalente Bindungen vorliegen.

25

Als weitere Vorteile der Verbindungen der allgemeinen Formel I seien, auch im Gegensatz zu den strukturähnlichen Verbindungen der EP0355041, angeführt:

- a) gute Verträglichkeit
- b) sehr gute Wasserlöslichkeit
- c) hohe Wirksamkeit in der PDT
- d) gute chemische Stabilität in wässriger Lösung

30

- e) kurze Halbwertszeit im Körper
- f) vollständige Ausscheidung aus dem Körper
- g) hohe Relaxivität

5 Für die Verwendung der erfindungsgemäßen Mittel in der NMR-Diagnostik müssen paramagnetische Metallionen im Komplex vorhanden sein. Dies sind insbesondere zwei- und dreiwertige Ionen der Elemente der Ordnungszahlen 21-29, 42, 44 und 57-70. Geeignete Ionen sind beispielsweise Chrom(III)-, Mangan(II)-, Mangan(III)-, Eisen(III)-, Cobalt(II)-, Cobalt(III)-, Nickel(II)-, Kupfer(II)-, Praseodym(II)-, 10 Neodym(III)-, Samarium(III)- und Ytterbium(III)-ion. Wegen ihres hohen magnetischen Moments sind besonders bevorzugt das Gadolinium(III)-, Dysprosium(III)-, Mangan(II)- und Eisen(III)-ion. Bevorzugt steht M für zwei Wasserstoffatome, Zn^{2+} , Sn^{2+} , Sn^{4+} , Cd^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Lu^{3+} , In^{3+} , B^{3+} und Ga^{3+} ; besonders bevorzugt für zwei Wasserstoffatome und Zn^{2+} .

15 Überraschenderweise zeigen die erfindungsgemäßen Komplexe gegenüber den bislang bekannten, strukturell ähnlichen Verbindungen eine deutlich höhere Relaxivität. Da die Relaxivität als ein Maß für die Kontrastmittelwirksamkeit einer Verbindung angesehen werden kann, gelingt bei Verwendung der erfindungsgemäßen Komplexe im Bereich 20 der NMR-Diagnostik eine vergleichbare, positive Signalbeeinflussung schon bei einer niedrigen Dosis. Dadurch vergrößert sich der Sicherheitsabstand signifikant, für den als Richtwert das Produkt aus Relaxivität und Verträglichkeit angesehen werden kann.

25 Die erfindungsgemäßen Komplexe können für die Therapie von Autoimmunkrankheiten, psoriatische Arthritis und rheumatische Arthritis verwendet werden.

Sofern eines der im Porphyrin gebundenen Ionen in einer höheren Oxidationsstufe als +2 vorliegt, so wird (werden) die überschüssige(n) Ladung(en) z.B. durch Anionen von organischen oder anorganischen Säuren, bevorzugt durch Acetat-, Chlorid-, 30 Sulfat-, Nitrat-, Tartrat-, Succinat-, und Maleat-Ionen oder durch in R^2 und/oder R^3 vorhandenen negativen Ladungen ausgeglichen.

Gewünschtenfalls können die Carboxylgruppen, die nicht für die Komplexierung der Metallionen benötigt werden, als Ester, als Amide oder als Salze anorganischer oder organischer Basen vorliegen. Geeignete Esterreste sind solche mit 1 bis 6 C-Atomen
5 vorzugsweise die Ethylester; geeignete anorganische Kationen sind beispielsweise das Lithium- und das Kalium-Ion und insbesondere das Natrium-Ion. Geeignete Kationen organischer Basen sind solche von primären, sekundären oder tertiären Aminen, wie zum Beispiel Ethanolamin, Diethanolamin, Morpholin, Glucamin, N, N-Dimethylglucamin, insbesondere das Meglumin.

10

Bevorzugt stehen R² und R³ jeweils für die Gruppen -CONHNHK, -CONH(CH₂)₂NHK, -CONH(CH₂)₃NHK, -CONH(CH₂)₄NHK und -CONH(CH₂)₂O(CH₂)₂NHK, wobei die erste Gruppe bevorzugt ist, R² und R³ stehen bevorzugt für den gleichen Rest.

15

A² steht bevorzugt für eine -CH₂-, -(CH₂)₂-, -CH₂OC₆H₄-β, -CH₂OCH₂- -C₆H₄-, -CH₂-NHCO-CH₂-CH(CH₂COOH)-C₆H₄-β, wobei β für die Bindungsstelle an X steht. X steht bevorzugt für die CO-gruppe.

R₆ steht bevorzugt für ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe. Als besondere Verbindung seien das {mu-[{16, 16'-[Zink (II)-7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylprophyrin-2, 18-diyl] bis [3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-pentaazahexadecanoato]}(8-)]}digodolinato(2-), Dinatrium, bzw. die zinkfreie Verbindung genannt.

25

Als Komplexbildnerrest K seien vorzugsweise Derivate der Diethylentriaminpentaessigsäure und der 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7-triessigsäure genannt, die über einen linker an das jeweilige Prophyrin gebunden sind.

30

Die Herstellung der Komplexverbindungen der allgemeinen Formel I erfolgt nach literaturbekannten Methoden (s. z.B. DE 4232925 für II a und II b; s. z.B. DE 19507822, DE 19580858 und DE 19507819 für III c; s. z.B. US-5,053,503, WO 96/02669, WO 96/01655, EP 0430863, EP 255471, US-5,277,895, EP 0232751, US-4,885,363 für II d und II e).

Die Verbindungen worin R2 und R3 für CONHNHK-gruppen stehen, sind bevorzugt. Die Synthese des hierfür als Edukt benötigten 3, 3'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl)di(propanohydrazid) wird in Z. Physiol Chem. 241, 5 209 (1936) beschrieben.

Die Einführung der gewünschten Metalle (z.B. Zn) in die Porphyrine erfolgt nach literaturbekannten Methoden (z.B. The Porphyrins, ed. D. Dolphin, Academic Press, 10 New York 1980, Vol. V, p. 459; DE 4232925), wobei im wesentlichen zu nennen sind:

- 15 a) die Substitution der pyrrolischen NH's (durch Erwärmen des metallfreien Liganden mit dem entsprechenden Metallsalz, vorzugsweise dem Acetat, gegebenenfalls unter Zusatz von säurepuffernden Mitteln, wie z.B. Natriumacetat, in einem polaren Lösungsmittel) oder
- b) die "Umkomplexierung", bei der ein bereits vom Liganden komplexiertes Metall durch das gewünschte Metall verdrängt wird.

Als Lösungsmittel sind vor allem polare Solventien, wie z.B. Methanol, Eisessig, Dimethylformamid, Chloroform und Wasser geeignet.

20 Die Einführung des diamagnetischen Metalls M in das Porphyrinsystem kann vor oder nach Anknüpfung des Komplexbildner-Restes K erfolgen. Dadurch wird eine besonders flexible Vorgehensweise für die Synthese der erfindungsgemäßen Verbindungen ermöglicht.

25 Die Chelatisierung des Restes K erfolgt in literaturbekannter Weise (siehe z.B. DE 34 01 052) indem das Metalloxid oder -salz (z.B. das Nitrat, Acetat, Carbonat, Chlorid oder Sulfat) des jeweils gewünschten Metalls, in polaren Lösungsmitteln wie Wasser oder wäßrigen Alkoholen suspendiert oder gelöst wird und mit der entsprechenden Menge des komplexbildenden Liganden umgesetzt wird. Soweit gewünscht, können vorhandene acide Wasserstoffatome oder Säuregruppen durch

Kationen anorganischer und/oder organischer Basen oder Aminosäuren substituiert werden.

Die Neutralisation erfolgt dabei mit Hilfe anorganischer Basen wie z.B. Alkali- oder

5 Erdalkali-hydroxiden, -carbonaten oder -bicarbonaten und/oder organischer Basen wie unter anderem primärer, sekundärer und tertiärer Amine, wie z.B. Ethanolamin, Morpholin, Glucamin, N-Methyl- und N,N-Dimethylglucamin, sowie basischer Aminosäuren, wie z.B. Lysin, Arginin und Ornithin oder von Amiden ursprünglich neutraler oder saurer Aminosäuren.

10

Zur Herstellung der neutralen Komplexverbindungen kann man beispielsweise den sauren Komplexsalzen in wäßriger Lösung oder Suspension soviel der gewünschten Basen zusetzen, daß der Neutralpunkt erreicht wird. Die erhaltene Lösung kann anschließend im Vakuum zur Trockne eingeengt werden. Häufig ist es von Vorteil, 15 die gebildeten Neutralsalze durch Zugabe von mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln, wie zum Beispiel niederen Alkoholen (z.B. Methanol, Ethanol, Isopropanol), niederen Ketonen (z.B. Aceton), polaren Ethern (z.B. Tetrahydrofuran, Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan) auszufällen und so leicht zu isolierende und gut zu reinigende Kristallisate zu erhalten. Als besonders vorteilhaft hat es sich erwiesen, die gewünschte 20 Base bereits während der Komplexbildung der Reaktionsmischung zuzusetzen und dadurch einen Verfahrensschritt einzusparen.

25 Enthalten die sauren Komplexverbindungen mehrere freie acide Gruppen, so ist es oft zweckmäßig, neutrale Mischsalze herzustellen, die sowohl anorganische als auch organische Kationen als Gegenionen enthalten.

Dies kann beispielsweise geschehen, indem man den komplexbildenden Liganden in wäßriger Suspension oder Lösung mit dem Oxid oder Salz des das Zentralion liefernden Elements und der Hälfte des zur Neutralisation benötigten Menge einer 30 organischen Base umsetzt, das gebildete Komplexsalz isoliert, es gewünschtenfalls reinigt und dann zur vollständigen Neutralisation mit der benötigten Menge

anorganischer Base versetzt. Die Reihenfolge der Basenzugabe kann auch umgekehrt werden.

Eine andere Möglichkeit, zu neutralen Komplexverbindungen zu kommen, besteht 5 darin, die verbleibenden Säuregruppen im Komplex ganz oder teilweise in Ester zu überführen. Dies kann durch nachträgliche Reaktion am fertigen Komplex geschehen (z.B. durch erschöpfende Umsetzung der freien Carboxy-Gruppen mit Dimethylsulfat).

Die Herstellung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel erfolgt ebenfalls in an 10 sich bekannter Weise, indem man die erfindungsgemäßen Komplexverbindungen - gegebenenfalls unter Zugabe der in der Galenik üblichen Zusätze - in wäßrigem Medium suspendiert oder löst und anschließend die Suspension oder Lösung gegebenenfalls sterilisiert. Geeignete Zusätze sind beispielsweise physiologisch unbedenkliche Puffer (wie z.B. Tromethamin), geringe Zusätze von Komplexbildnern 15 (wie z.B. Diethylentriaminpentaessigsäure) oder, falls erforderlich, Elektrolyte wie z. B. Natriumchlorid oder, falls erforderlich, Antioxidantien wie z.B. Ascorbinsäure.

Sind für die enterale Verabreichung oder andere Zwecke Suspensionen oder Lösungen 20 der erfindungsgemäßen Mittel in Wasser oder in physiologischer Salzlösung erwünscht, werden sie mit einem oder mehreren in der Galenik üblichen Hilfsstoff(en) (z.B. Methylcellulose, Lactose, Mannit) und/oder Tensid(en) (z.B. Lecithine, Tween®, Myrj®) und/oder Aromastoffen zur Geschmackskorrektur (z.B. etherischen Ölen) gemischt.

25 Prinzipiell ist es auch möglich, die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel auch ohne Isolierung der Komplexsalze herzustellen. In jedem Fall muß besondere Sorgfalt darauf verwendet werden, die Chelatbildung so vorzunehmen, daß die erfindungsgemäßen Salze und Salzlösungen praktisch frei sind von nicht komplexierten toxisch wirkenden Metallionen.

Dies kann beispielsweise mit Hilfe von Farbindikatoren wie Xylenolorange durch Kontrolltitrationen während des Herstellungsprozesses gewährleistet werden. Die Erfindung betrifft daher auch Verfahren zur Herstellung der Komplexverbindungen und ihrer Salze. Als letzte Sicherheit bleibt eine Reinigung des isolierten
5 Komplexsalzes.

Um unerwünschte Photoreaktionen der Porphyrine zu vermeiden, sollten die erfindungsgemäßen Verbindungen und Mittel möglichst unter Lichtausschluß gelagert und gehandhabt werden.

10

Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Mittel enthalten vorzugsweise 20 $\mu\text{mol}/\text{L}$ bis 200 mmol/L des Komplexsalzes und werden in der Regel in Mengen von 0,01 μmol bis 2 mmol/kg Körpergewicht dosiert, sowohl in ihrer Anwendung für die PDT als auch für die Therapiekontrolle mittels MRI-Diagnostik. Sie sind zur enteralen und
15 parenteralen Applikation bestimmt oder werden mit den Methoden der interventionellen Radiologie appliziert.

20

Die erfindungsgemäßen Mittel erfüllen die vielfältigen Voraussetzungen für die Eignung als Mittel für die PDT und MRI-Kontrastmittel. So sind sie hervorragend dazu geeignet, nach Applikation durch Erhöhung der Signalintensität das mit Hilfe des Kernspintomographen erhaltene Bild in seiner Aussagekraft zu verbessern. Ferner zeigen sie die hohe Wirksamkeit, die notwendig ist, um den Körper mit möglichst geringen Mengen an Fremdstoffen zu belasten und die gute Verträglichkeit, die notwendig ist, um den nichtinvasiven Charakter der Untersuchungen
25 aufrechtzuerhalten.

30

Die gute Wasserlöslichkeit der erfindungsgemäßen Mittel erlaubt es hochkonzentrierte Lösungen herzustellen, damit die Volumenbelastung des Kreislaufs in vertretbaren Grenzen zu halten und die Verdünnung durch Körperflüssigkeit auszugleichen. Weiterhin weisen die erfindungsgemäßen Mittel nicht nur eine hohe Stabilität in vitro auf, sondern auch eine überraschend hohe Stabilität in vivo, so daß eine Freigabe oder

ein Austausch der in den Komplexen nicht konvalent gebundenen - an sich giftigen - Ionen innerhalb der Zeit, in der die Kontrastmittel vollständig wieder ausgeschieden werden, zu vernachlässigen ist.

- 5 Die Erfindung wird durch die nachfolgenden Beispiele erläutert.

Beispiel 1

5 a) [7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-dipropionylhydrazinato
(2-)K N21, K N22, K N23, K N24]-Zink

1190 mg (2 mmol) 3,3'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl)-di(propanohydrazid) (hergestellt analog zu H. Fischer, E. Haarer und F. Stadler, Z. Physiol. Chem. 241, 209 (1936) und 427,18 mg (2 mmol) Zinkacetylacetonat-1 Hydrat werden in 150 ml Essigsäure/100 ml Chloroform 5 Stunden auf 80°C erhitzt. Dann wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgeschlämmt, abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das getrocknete Rohprodukt wird aus Pyridin/Diethylether umkristallisiert.

15 Ausbeute: 1,25 g (95 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 62,05	H 6,13	N 17,03	Zn 9,94
gef.:	C 63,27	H 6,29	N 16,88	Zn 9,81

20

b) [7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-2, 18-bis {3, 6, 16-trioxo-8, 11, 14-tris(carboxymethyl) 17-oxa-4, 5, 8, 11, 14-pentaazanonadec-1-yl}porphyrinato
(2-)]-Zink

25

806,8 mg (2 mmol) 3-Ethoxy-carbonylmethyl-6-[2-(2,6-dioxomorpholino)ethyl]-3,6-diazaoctandi-säure (DTPA-monoethylester-monoanhydrid) werden in 250 ml absolutem Dimethylformamid suspendiert. Man überschichtet mit Stickstoff, setzt 1,0 g (10 mmol) Triethylamin und 658 mg (1 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 1a zu und röhrt das resultierende Reaktionsgemisch 3 Tage bei Raumtemperatur. Nach beendeter Reaktion wird filtriert, das Lösungsmittel im

Vakuum abgezogen und das verbleibende Öl mit 500 ml Diethylether verrieben. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit Diethylether und n-Hexan gewaschen. Zur Reinigung wird an Kieselgel RP-18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran: 0-30 %).

5 Ausbeute: 1,33 g (91 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Wassergehalt: 4,8 %

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

10 ber.: C 54,11 H 6,19 N 13,39 Zn 4,46
gef.: C 54,31 H 6,29 N 13,29 Zn 4,35

c) [7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-2, 18-bis{3, 6, 16-trioxo-8, 11, 14-

15 tris(carboxymethyl)-4, 5, 8, 11, 14-pentaazahexadecanoato}porphinato(2-)]-Zink

1,3 g (0,887 mmol) des unter Beispiel 1b hergestellten Liganden werden in 400 ml Wasser gelöst. Durch Zugabe von 10 molarer wäßriger Natronlauge wird pH 20 13 eingestellt und 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollzogener Verseifung der Estergruppen wird mit konzentrierter Salzsäure pH 3 eingestellt. Man dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an RP 18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran/Gradient).

Ausbeute: 1,17 g (94 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Wassergehalt: 5,7 %

25

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 52,86 H 5,87 N 13,92 Zn 4,64
gef.: C 52,68 H 5,99 N 13,81 Zn 4,57

30

d) $\{\mu-\{16, 16'-[Zink(II)-7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl]-bis[3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-pentaazahexadecanoato]\}(8-)\}-digadolinato(2-)$, Dinatrium

5 1,14 g (0,81 mmol) des unter Beispiel 1c hergestellten Liganden werden in 400 ml Wasser gelöst und abwechselnd portionsweise 427 mg 1,62 mmol Gadoliniumchlorid und 2n wäßrige Natronlauge zugesetzt, so daß der pH-Wert des Reaktionsgemisches stets zwischen 6,8 und 7,2 pendelt. Ist alles Gadoliniumchlorid zugesetzt, wird über Nacht bei Raumtemperatur nachgerührt.
10 Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand an Kieselgel RP-18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran: 0-30 %).
Ausbeute: 1,412 g (99 % d. Th.) rotbraunes Pulver
Wassergehalt: 7,4 %

15

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 42,28	H 4,24	N 11,13	Gd 17,86	Na 2,61	Zn 3,71
gef.:	C 42,35	H 4,36	N 11,01	Gd 17,69	Na 2,38	Zn 3,58

20

Beispiel 2

25

a) [7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-dipropionylhydrazinato (2-)-K N21, K N22, K N23, K N24]-Magnesium

30 1190 mg (2 mmol) 3,3'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl)-di(propanohydrazid) (hergestellt analog zu H. Fischer, E. Haarer und F. Stadler, Z. Physiol. Chem. 241, 209; 1936) und 517,12 mg (2 mmol)

Magnesiumacetylacetonat-Dihydrat werden in 150 ml Essigsäure/100 ml Chloroform 5 Stunden auf 80°C erhitzt. Dann wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgeschlämmt, abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das getrocknete Rohprodukt wird aus Pyridin/ Diethylether umkristallisiert.

5 Ausbeute: 1,16 g (94 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 66,18 H 6,53 N 18,16 Mg 3,94
10 gef.: C 66,01 H 6,49 N 18,02 Mg 3,87

b [7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-2, 18-bis {3, 6, 16-trioxo-8, 11, 14-tris(carboxymethyl) 17-oxa-4, 5, 8, 11, 14-pentaazanonadec-1-yl}porphyrinato (2-)]-Magnesium

15

806,8 mg (2 mmol) 3-Ethoxy-carbonylmethyl-6-[2-(2,6-dioxomorpholino)ethyl]-3,6-diazaoctandi-säure (DTPA-monoethylester-monoanhydrid) werden in 250 ml absolutem Dimethylformamid suspendiert. Man überschichtet mit Stickstoff, setzt 20 1,0 g (10 mmol) Triethylamin und 658 mg (1 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 2a zu und röhrt das resultierende Reaktionsgemisch 3 Tage bei Raumtemperatur. Nach beendeter Reaktion wird filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und das verbleibende Öl mit 500 ml Diethylether verrieben. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit Diethylether und n-Hexan 25 gewaschen. Zur Reinigung wird an Kieselgel RP-18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran: 0-30 %).

Ausbeute: 1,28 g (90 % d. Th.) rotbraunes Pulver
Wassergehalt: 6,1 %

30 Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 55,68 H 6,37 N 13,77 Mg 1,71

gef.: C 55,55 H 6,48 N 13,68 Mg 1,61

5 c) [7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-2, 18-bis{3, 6, 16-trioxo-8, 11, 14-
tris(carboxymethyl)-4, 5, 8, 11, 14-pentaazahexadecanoato}porphinato(2-)]-
Magnesium

10 1,25 g (0,878 mmol) des unter Beispiel 2b hergestellten Liganden werden in 400 ml Wasser gelöst. Durch Zugabe von 10 molarer wäßriger Natronlauge wird pH 13 eingestellt und 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollzogener
15 Verseifung der Estergruppen wird mit konzentrierter Salzsäure pH 3 eingestellt. Man dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an RP 18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran/Gradient).
Ausbeute: 1,12 g (93 % d. Th.) rotbraunes Pulver
15 Wassergehalt: 5,8 %

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 54,45 H 6,04 N 14,34 Mg 1,78

gef.: C 54,51 H 6,21 N 14,17 Mg 1,63

20

d) {μ-[{16, 16'-[Magnesium(II)-7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl]-bis[3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-pentaazahexadecanoato]}(8-)]}-digadolinato(2-),-Dinatrium

25

1,09 g (0,797 mmol) des unter Beispiel 2c hergestellten Liganden werden in 400 ml Wasser gelöst und abwechselnd portionsweise 420,2 mg (1,594 mmol) Gadoliniumchlorid und 2n wäßrige Natronlauge zugesetzt, so daß der pH-Wert des Reaktionsgemisches stets zwischen 6,8 und 7,2 pendelt. Ist alles
30 Gadoliniumchlorid zugesetzt, wird über Nacht bei Raumtemperatur nachgerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der

Rückstand an Kieselgel RP-18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran: 0-30 %).

Ausbeute: 1,36 g (99 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Wassergehalt: 7,2 %

5

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 43,20 H 4,34 N 11,40 Gd 18,28 Mg 1,41 Na 2,67

gef.: C 43,10 H 4,51 N 11,28 Gd 18,13 Mg 1,36 Na 2,41

10

Beispiel 3

15 a) Acetato[7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2,18-dipropionylhydrazinato(2-)-K N21, K N22, K N23, K N24]-Aluminium

1190 mg (2 mmol) 3,3'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2,18-diyl)-di(propanohydrazid) (hergestellt analog zu H. Fischer, E. Haarer und F. Stadler, Z. 20 Physiol. Chem. 241, 209 (1936) und 648,62 mg (2 mmol) Aluminiumacetylacetonat werden in 150 ml Essigsäure/100 ml Chloroform 5 Stunden auf 80°C erhitzt. Dann wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgeschlämmt, abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das getrocknete Rohprodukt wird aus Pyridin/ Diethyl-ether umkristallisiert.

25 Ausbeute: 1,30 g (96 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 63,70 H 6,39 N 16,51 Al 3,98

gef.: C 63,58 H 6,51 N 16,37 Al 3,81

30

b) Acetato[7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-2, 18-bis{3, 6, 18-trioxo-8, 11, 14 tris(carboxymethyl)-17-oxa-4, 5, 8, 11, 14-pentaazanonadec-1-yl}porphinato(3-)]-Aluminium

5 806,8 mg (2 mmol) 3-Ethoxy-carbonylmethyl-6-[2-(2,6-dioxomorpholino)ethyl]-3,6-diaza octandi-säure (DTPA-monoethylester-monoanhydrid) werden in 250 ml absolutem Dimethylformamid suspendiert. Man überschichtet mit Stickstoff, setzt 1,0 g (10 mmol) Triethylamin und 678,77 mg (1 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 3a zu und röhrt das resultierende Reaktionsgemisch 3 Tage bei
10 Raumtemperatur. Nach beendeter Reaktion wird filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und das verbleibende Öl mit 500 ml Diethylether verrieben. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit Diethylether und n-Hexan gewaschen. Zur Reinigung wird an Kieselgel RP-18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran: 0-30 %).
15 Ausbeute: 1,29 g (87 % d. Th.) rotbraunes Pulver
Wassergehalt: 6,9 %
Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):
ber.: C 54,98 H 6,31 N 13,20 Al 1,82
gef.: C 54,88 H 6,52 N 13,10 Al 1,67

20

c) Chloro[7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-2, 18-bis{3, 6, 18-trioxo-8, 11, 14 tris(carboxymethyl)-4, 5, 8, 11, 14-pentaazahexadecanoato}porphinato(3-)]-Aluminium

25

1,26 g (0,848 mmol) des unter Beispiel 3b hergestellten Liganden werden in 400 ml Wasser gelöst. Durch Zugabe von 10 molarer wäßriger Natronlauge wird pH 13 eingestellt und 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollzogener
30 Verseifung der Estergruppen wird mit konzentrierter Salzsäure pH 3 eingestellt.

Man dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an RP 18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran/Gradient).

Ausbeute: 1,09 g (91 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Wassergehalt: 5,3 %

5

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 52,97	H 5,88	N 13,95	Al 1,92	Cl 2,52
10 gef.:	C 52,90	H 6,03	N 13,87	Al 1,83	Cl 2,43

15 d) {mu-[{16, 16'-[Chloroaluminum(III)-7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2,18-diyl]-bis[3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-pentaazahexadecanoato]}(8-)]}-digadolinato(2-), Dinatrium

20 1,05 g (0,747 mmol) des unter Beispiel 3c hergestellten Liganden werden in 400 ml Wasser gelöst und abwechselnd portionsweise 393,82 mg (1,494 mmol) Gadoliniumchlorid und 2n wäßrige Natronlauge zugesetzt, so daß der pH-Wert des Reaktionsgemisches stets zwischen 6,8 und 7,2 pendelt. Ist alles 25 Gadoliniumchlorid zugesetzt, wird über Nacht bei Raumtemperatur nachgerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand an Kieselgel RP-18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran: 0-30 %).

Ausbeute: 1,30 g (99 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Wassergehalt: 4,8 %

30 Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 42,35	H 4,24	N 11,15	Gd 17,89	Al 1,53	Cl 2,02	Na 2,62
30 gef.:	C 42,48	H 4,38	N 11,03	Gd 17,77	Al 1,47	Cl 1,87	Na 2,51

Beispiel 4

5

a) Acetato[7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2,18-dipropionylhydrazinato(2-)-K N21, K N22, K N23, K N24]-Lutetium

1190 mg (2 mmol) 3,3'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2,18-diyl)-di(propanohydrazid) (hergestellt analog zu H. Fischer, E. Haarer und F. Stadler, Z. Physiol. Chem. 241, 209 (1936) und 944,6 mg (2 mmol) Lutetiumacetylacetonat werden in 150 ml Essigsäure/100 ml Chloroform 5 Stunden auf 80°C erhitzt. Dann wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgeschlämmt, abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das getrocknete Rohprodukt wird aus Pyridin/ Diethylether umkristallisiert.

15 Ausbeute: 1,50 g (91 % d. Th.) rotbraunes Pulver

20

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 52,30 H 5,24 N 13,55 Lu 21,16

gef.: C 52,15 H 5,18 N 13,47 Lu 21,03

25

b) Acetato[7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-2, 18-bis{3, 6, 18-trioxo-8, 11, 14-tris(carboxymethyl)-17-oxa-4, 5, 8, 11, 14-pentaazanonadec-1-yl}-porphinato(3-)]-Lutetium

30

806,8 mg (2 mmol) 3-Ethoxy-carbonylmethyl-6-[2-(2,6-dioxomorpholino)ethyl]-3,6-diaza octandi-säure (DTPA-monoethylester-monoanhydrid) werden in 250 ml absolutem Dimethylformamid suspendiert. Man überschichtet mit Stickstoff, setzt

1,01 g (10 mmol) Triethylamin und 826,76 mg (1 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 4a zu und röhrt das resultierende Reaktionsgemisch 3 Tage bei Raumtemperatur. Nach beendeter Reaktion wird filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und das verbleibende Öl mit 500 ml Diethylether verrieben.

5 Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und mit Diethylether und n-Hexan gewaschen. Zur Reinigung wird an Kieselgel RP-18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran: 0-30 %).

Ausbeute: 1,42 g (87 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Wassergehalt: 4,6 %

10

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 50,00 H 5,74 N 12,00 Lu 10,71

gef.: C 49,81 H 5,85 N 11,87 Lu 10,58

15

c) Chloro[7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-2, 18-bis{3, 6, 18-trioxo-8, 11, 14-tris(carboxymethyl)-4, 5, 8, 11, 14-pentaazahexadecanoato}porphinato(3-)]-Lutetium

20

1,39 g (0,851 mmol) des unter Beispiel 4b hergestellten Liganden werden in 400 ml Wasser gelöst. Durch Zugabe von 10 molarer wäßriger Natronlauge wird pH 13 eingestellt und 5 Stunden bei Raumtemperatur geröhrt. Nach vollzogener Verseifung der Estergruppen wird mit konzentrierter Salzsäure pH 3 eingestellt. Man dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand wird an RP 18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran/Gradient).

Ausbeute: 1,22 g (92 % d. Th.) rotbraunes Pulver

Wassergehalt: 5,3 %

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

30

ber.: C 47,93 H 5,32 N 12,62 Cl 2,28 Lu 11,26

gef.: C 47,81 H 5,47 N 12,48 Cl 2,14 Lu 11,14

5 d) {mu-[{16, 16'-[Chlorolutetium(III)-7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2,18-diyl]-bis[3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-pentaazahexadecanoato]}(8-)]}-digadolinato(2-), Dinatrium

10 1,19 g (0,766 mmol) des unter Beispiel 4c hergestellten Liganden werden in 400 ml Wasser gelöst und abwechselnd portionsweise 403,8 mg (1,532 mmol) Gadoliniumchlorid und 2n wäßrige Natronlauge zugesetzt, so daß der pH-Wert des Reaktionsgemisches stets zwischen 6,8 und 7,2 pendelt. Ist alles 15 Gadoliniumchlorid zugesetzt, wird über Nacht bei Raumtemperatur nachgerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand an Kieselgel RP-18 chromatographiert (Eluens: H₂O/Tetrahydrofuran: 0-30 %). Ausbeute: 1,44 g (99 % d. Th.) rotbraunes Pulver Wassergehalt: 6,5 %

20 Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 39,07	H 3,91	N 10,29	Gd 16,50	Cl 1,86	Lu 9,18	Na 2,41
gef.:	C 38,98	H 4,13	N 10,14	Gd 16,37	Cl 1,78	Lu 9,03	Na 2,35

25 **Beispiel 5**

30 a) {7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-2, 18-bis[15, 15-dimethyl-3, 6, 13-trioxo-8-(2-{N, N-bis[(t butoxycarbonyl)methyl]amino}-ethyl)-11-[(t butoxycarbonyl)-methyl]14-oxa-4, 5, 8, 11-tetraazahexadec-1-yl}-porphyrin

8,31 g (13,45 mmol) 3,9-Bis(t.butoxycarbonylmethyl)-6-carboxymethyl-3,6,9-triazaundecandisäure-di-t.butylester, dargestellt nach DE 19507819, Beispiel 1f, und 2,09 g (15 mmol) 4-Nitrophenol werden in 60 ml Dimethylformamid gelöst und bei 0°C 5,16 g (25 mmol) N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid zugegeben. Man röhrt 3 Stunden bei 0°C, dann über Nacht bei Raumtemperatur. Zu der so hergestellten Aktivester-Lösung tropft man 2 g (3,36 mmol) 3,3'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2,18-diyl)-di(propanohydrazid), dargestellt nach H. Fischer, E. Haarer und F. Stadler, Z. Physiol. Chem., 241, 209 (1936), (gelöst in 50 ml Pyridin) zu und röhrt über Nacht. Man dampft im Vakuum zur Trockne ein und chromatographiert den Rückstand an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan/2-Propanol= 20:1).

Ausbeute: 5,24 g (87 % d. Th.) eines dunkelbraunen Feststoffes

15 Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 62,92 H 8,31 N 10,93
ef.: C 62,81 H 8,45 N 10,80

20 b) {mu-[{13, 13'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethyl-porphyrin-2, 18-diyl)-
bis{3-carboxymethyl-6-(2-{N, N-bis[(carboxy)methyl]amino}ethyl)-8, 11-dioxo-3,
6, 9, 10-tetraazatridecanoato]}(8-)}digadolinato(2-), Dinatrium

25 5 g (2,79 mmol) der Titelverbindung aus Beispiel 5a werden in 100 ml Trifluoressigsäure gelöst und 8 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man dampft im Vakuum zur Trockne ein. Der so erhaltene Ligand wird in 100 ml Wasser gelöst und 1,01 g (2,79 mmol) Gadoliniumoxid zugegeben. Man röhrt bei 60 °C und hält durch Zugabe von 1 N aqu. Natronlauge den pH-Wert bei 5. Die Lösung wird filtriert und das Filtrat mit 1 N aqu. Natronlauge auf pH 7,2 gestellt. Anschließend wird an RP 18 chromatographiert (Laufmittel: Gradient aus Wasser/Acetonitril).
30 Ausbeute: 4,49 g (95 % d. Th.) eines amorphen Feststoffes
Wassergehalt: 10,3 %

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.:	C 43,86	H 4,51	N 11,55	Gd 18,52	Na 2,71
gef.:	C 43,61	H 4,70	N 11,38	Gd 18,37	Na 2,50

5

10

Beispiel 6

{10, 10'-(my-{10, 10'-(7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl)bis[(1RS)-1-methyl-2, 5, 8-trioxo-3, 6, 7-triaza-dec-1-yl]})bis[1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecan-1, 4, 7-triacetato(3-)]}digadolinium

8,47 g (13,45 mmol) des Gd-Komplexes der 10-(4-Carboxy-2-oxo-3-aza-1-methylbutyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-triessigsäure, 0,64 g Lithiumchlorid (15 mmol) und 2,09 g (15 mmol) 4-Nitrophenol werden in 100 ml Dimethylsulfoxid 20 bei 50°C gelöst. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur werden 5,16 g (25 mmol) N,N'Dicyclohexylcarbodiimid zugesetzt und 12 Stunden voraktiviert. Zu der so hergestellten Lösung gibt man 2 g (3,36 mmol) 3, 3'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl)di(propanohydrazid) und 0,71 g (7 mmol) Triethylamin und röhrt über Nacht bei Raumtemperatur. Die erhaltene Suspension 25 wird anschließend mit ausreichend Aceton bis zur vollständigen Fällung versetzt, der Niederschlag abgesaugt, getrocknet, in Wasser aufgenommen, von unlöslichem Dicyclohexylharnstoff abfiltriert und das Filtrat an RP 18 chromatographiert (Laufmittel: Gradient aus Tetrahydrofuran/Wasser).
Ausbeute: 5,07 g (83 % d. Th.) eines dunkelbraunen amorphen Pulvers
30 Wassergehalt: 7,9 %

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 47,56 H 5,43 N 13,87 Gd 17,30

gef.: C 47,42 H 5,53 N 13,68 Gd 17,15

5

10

Beispiel 7

a) Konjugat aus 3, 3'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl)di(propanohydrazid) und dem 10-[7-(4-Isothiocyanatophenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-(carboxymethyl)-4-aza-heptyl]-1,4,7-tris(carboxylatomethyl)-1,4,7-tris(carboxylatomethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, Gadoliniumkomplex, Natriumsalz

({10,10'-{my-[(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl)bis{(1-oxopropan-3, 1-diyl)hydrazino-thiocarbonylamino-4, 1-phenylen[(3RS)-3-carboxymethyl-1-oxopropan-3, 1-diyl]amino(2-hydroxypropan-3, 1-diyl)}]}bis[1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecan-1, 4, 7-triacetato(4-)]}digadolinium, dinatrium)

Zu 594,8 mg (1 mmol) 3, 3'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl)di(propanohydrazid) und 1806 mg (2,2 mmol) 10-[7-(4-Isothiocyanatophenyl)-2-hydroxy-5-oxo-7-(carboxymethyl)-4-aza-heptyl]-1,4,7-tris(carboxylatomethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan, Gd-Komplex, Natriumsalz, hergestellt nach WO 94/07894, Beispiel 1, in 50 ml Wasser gibt man 1,01 g (10 mmol) Triethylamin und röhrt 12 Stunden bei Raumtemperatur. Man dampft im Vakuum zur Trockne ein und chromatographiert an Kieselgel

(Laufmittel: Methanol/Wasser/Eisessig = 10/5/1). Die produkthaltigen Fraktionen werden zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 100 ml Wasser gelöst und mit 2 N Natronlauge auf pH 7,2 gestellt. Anschließend wird gefriergetrocknet.

Ausbeute: 2,03 g (89 % d. Th.) eines dunkelbraunen amorphen Pulvers

5 Wassergehalt: 7,9 %

Elementaranalyse (berechnet auf wasserfreie Substanz):

ber.: C 48,45 H 5,22 N 12,28 S 2,81 Gd 13,79 Na 2,02

10 gef.: C 48,37 H 5,37 N 12,15 S 2,72 Gd 13,58 Na 1,75

15

Beispiel 8

20 Herstellung einer Formulierung des [mu-16, 16'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl] bis [3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-pentaazahexadecanoato]}(8-)]} diagadolinoato (2-), Dinatrium
(Titelverbindung aus Beispiel 1c, WO 94/07894)

25 50 mmol der Titelverbindung aus Beispiel 1c, WO 94/07894, 10 mmol TRIS-Puffer (Trishydroxymethyl-methylamin-Salzsäure, pH 7,4) und 120 mmol Mannitol werden in 500 ml bidestilliertem Wasser gelöst und im Meßkolben mit Wasser auf 1 l Volumen aufgefüllt. Die so erhaltene Lösung wird über eine 0,2 µm Membran filtriert und in Vials abgefüllt. Eine so hergestellte Lösung kann direkt für die
30 photodynamische Therapie verwendet werden.

5

Beispiel 9

Herstellung einer Formulierung des [mu-[{16, 16'-[Zink-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl] bis [3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 10, 12, 13-pentaazahexadecanoato]}(8-)]}digadolinato(2), Dinatrium

50 mmol der Titelverbindung aus Beispiel 1c, 10 mmol TRIS-Puffer (Trishydroxymethyl-methylamin-Salzsäure, pH 7,4) und 60 mmol Natriumchlorid werden in 500 ml bidestilliertem Wasser gelöst und im Meßkolben mit Wasser auf 1 l 15 Volumen aufgefüllt. Die so erhaltene Lösung wird über eine 0,2 μ m Membran filtriert und in Vials abgefüllt. Eine so hergestellte Lösung kann direkt für photodynamische Therapie verwendet werden.

20

Beispiel 10

Phototoxischer Effekt der Verbindung [mu-16, 16'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl]bis[3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 25 12, 13-pentaazahexadecanoato]}(8-)]}digadolinato(2-), Dinatrium (Beispiel 1c aus WO 94/07894) auf einen Tumor der Nacktmaus

15 Nacktmäusen vom Gewicht 24-30 g wird intracutan humanes Coloncarcinom (HT-29 P9) in die Flanke implantiert. Die Tumore werden bis zu einer Größe von 5-10 mm 30 wachsen gelassen. Die Mäuse werden in 3 Gruppen zu jeweils 5 Tieren aufgeteilt, innerhalb derer die Tumogröße eine vergleichbare Verteilung – 4,6 x 5,2 mm² bis 7,1

x 10,8 mm² – aufweist. Am Tag 1 und 3 wird den Tieren unter Narkose i.v. Substanz appliziert. Dabei erhalten die Tiere der Gruppe 1 2 x 130 µl 0,9 % NaCl-Lösung und sie bleiben die ganze Zeit im Dunkeln. Die Tiere der zweiten Gruppe erhalten 2 x 130 µl einer 100 mmolaren Lösung der Titelverbindung, was einer Dosis von 2 x 0,5 mmol/kg Körpergewicht entspricht. Die Tiere werden jeweils 30 Minuten nach Applikation für 45 Minuten mit einer Xenon-Lampe (8,5 k Lux, 1 cm Glas als UV-Filter) belichtet. Die restliche Versuchszeit verbringen sie im Dunkeln. Den Tieren der dritten Gruppe werden ebenfalls 2 x 130 µl einer 100 mmolaren Lösung Prüfsubstanz injiziert. Die Tiere verbleiben jedoch für die Versuchsdauer im Dunkeln. Am 6. Tag nach der Substanzapplikation werden die Tiere in Ether getötet. Der Tumor wird vermesssen, makroskopisch begutachtet, entnommen und histologisch untersucht. Die Befunde für die Gruppen 1 und 3 sind vergleichbar. Die Tumore sind ungehindert weiter gewachsen. In Gruppe 1 ist der Bereich 6,5 x 7,7 mm² bis bis 8,6 x 12,0 mm². Bei den sehr großen Tumoren, versorgt durch zahlreiche Blutgefäße, zeigen sich in der Mitte kleine Läsionen der Haut (möglicherweise Bißspuren) und teilweise tiefere Einblutungen. Die Tiere scheinen durch Tumor oder Behandlung nicht beeinträchtigt zu sein und befinden sich in guter Kondition. Die Tiere der Gruppe 3 zeigen zum Zeitpunkt der Tötung keine Verfärbung der Haut. Die Tumore bewegten sich in einem Bereich von 5,8 x 7,0 mm² bis 9,4 x 12,0 mm². Die Histologie zeigte multifokale zentrale Nekrose (Durchmesser: 0,1 – 0,8 mm) .

Bei den Tieren der Gruppe 2 werden folgende Beobachtungen gemacht:

Befund 3 d nach 1. Anwendung (0,5 mmol/kg + Licht)	Befund 3 d nach 2. Anwendung (Tag 6)
Tumor verschorft. Einrisse in der Haut	Tumor stark erodiert, verschorft. Einrisse in der Haut zusätzl. Kleine feste Tumorreste
Tumor braun verfärbt, Haut geschlossen, kein Schorf	Tumor stark erodiert, verschorft, Einrisse in der Haut Zusätzl. Kleine feste Tumorreste
Keine Anzeichen von Wirkung	Tier stirbt direkt nach 2. Applikation

Keine Anzeichen von Wirkung	Tumor braun verfärbt. Haut geschlossen, kein Schorf
Tumor braun verfärbt, Haut geschlossen, kein Schorf	Tier stirbt direkt vor 2. Applikation

Eine vergleichende Messung der Tumorgröße war bei dem Ausmaß der Zerstörung der Tumore nicht mehr möglich. Tumorwachstum fand, wenn überhaupt, nur in der Peripherie und in tieferen Tumorschichten statt. Die drei überlebenden Tiere erschienen 5 trotz der Tumorwunde am Ende der Untersuchung durch den Tumor oder die Behandlung nicht beeinträchtigt zu sein. Das Muskelgewebe unter dem Tumor erschien, trotz radialer Bestrahlung, unbeschädigt. Der Tumor war nicht in die Muskelschicht eingewachsen. Histologie der drei nicht erodierten Tumore zeigte multifokale zentrale Nekrose. Der Durchmesser ist mit 1,5 – 2,1 mm deutlich größer als er es bei den 10 unbestrahlten Tieren ist. Die Prüfsubstanz zeigt starke phototoxische Wirkung.

15

Beispiel 11

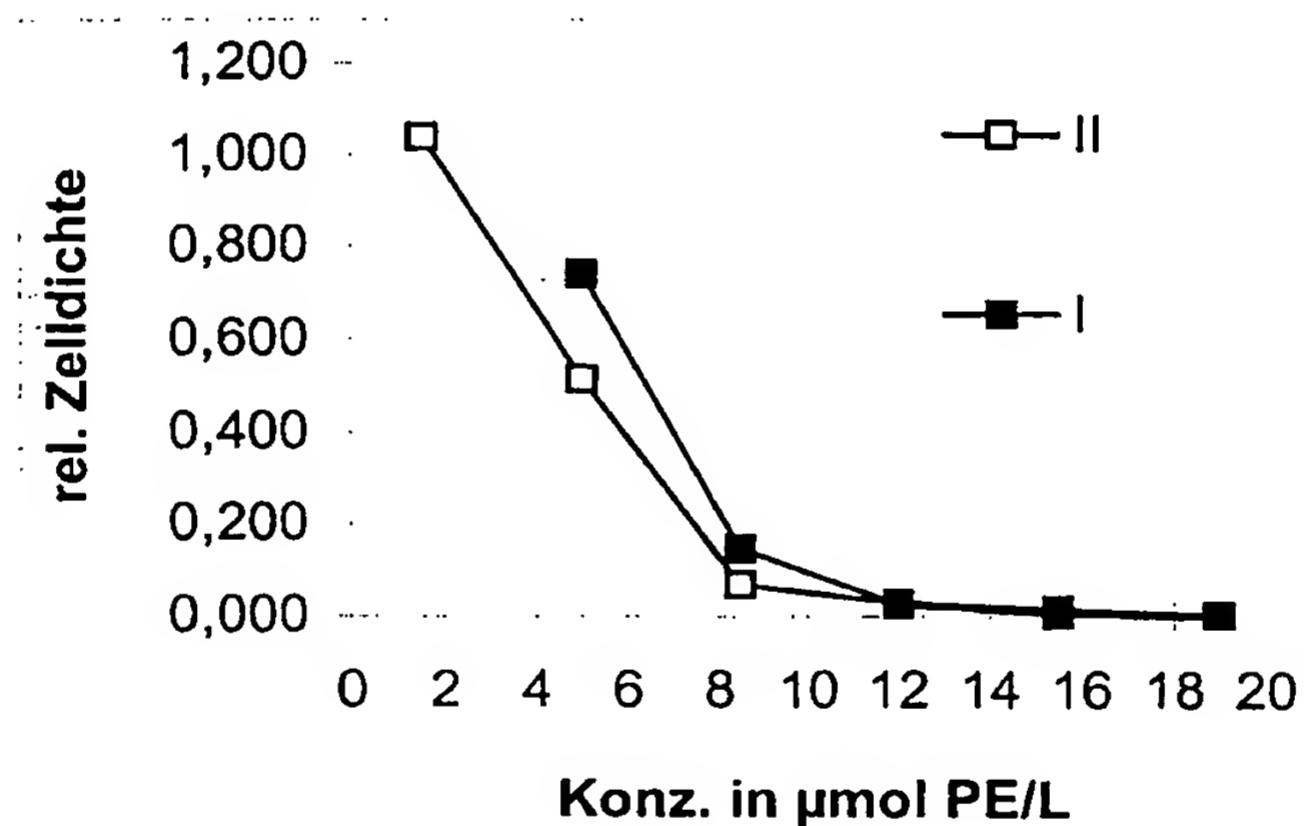
Bestimmung der Phototoxizität (ED50) von Verbindung 1c aus WO 94/07894 (I) und 20 von der Titelverbindung aus Beispiel 1 d) (II) auf eine Tumorzellkultur.

In Kulturflaschen von 25 ml Inhalt wird eine Zellkultur von humanen Coloncarcinom (HT-29 P9) 3 Tage bei 37°C vermehrt. Die Kulturen werden in zwei Gruppen aufgeteilt und mit Lösungen der Prüfsubstanzen (50 mmol Porphyrineinheit (PE) /l, verdünnt mit 25 fötalem Kälberserum) in zunehmender Menge (0; 1,5; 5; 8,5; 12; 15,5; 19 µmol PE/l) versetzt. Die Proben werden drei Tage lang mit einer Xenon-Lampe (8,5 k Lux, UV-Filter) bestrahlt. Die erste Gruppe erhält täglich 2 Bestrahlungen von je 30 Minuten Dauer im Abstand von 4 Stunden. Die restliche Zeit bleibt sie im Dunkeln im

Brutschrank. Die zweite Gruppe wird nicht belichtet und bleibt die gesamte Zeit im Dunkeln im Brutschrank. Am vierten Tag wird das Zellwachstum durch Lebend-Tot-Färbung und Zählung mit der Zählkammer bestimmt.

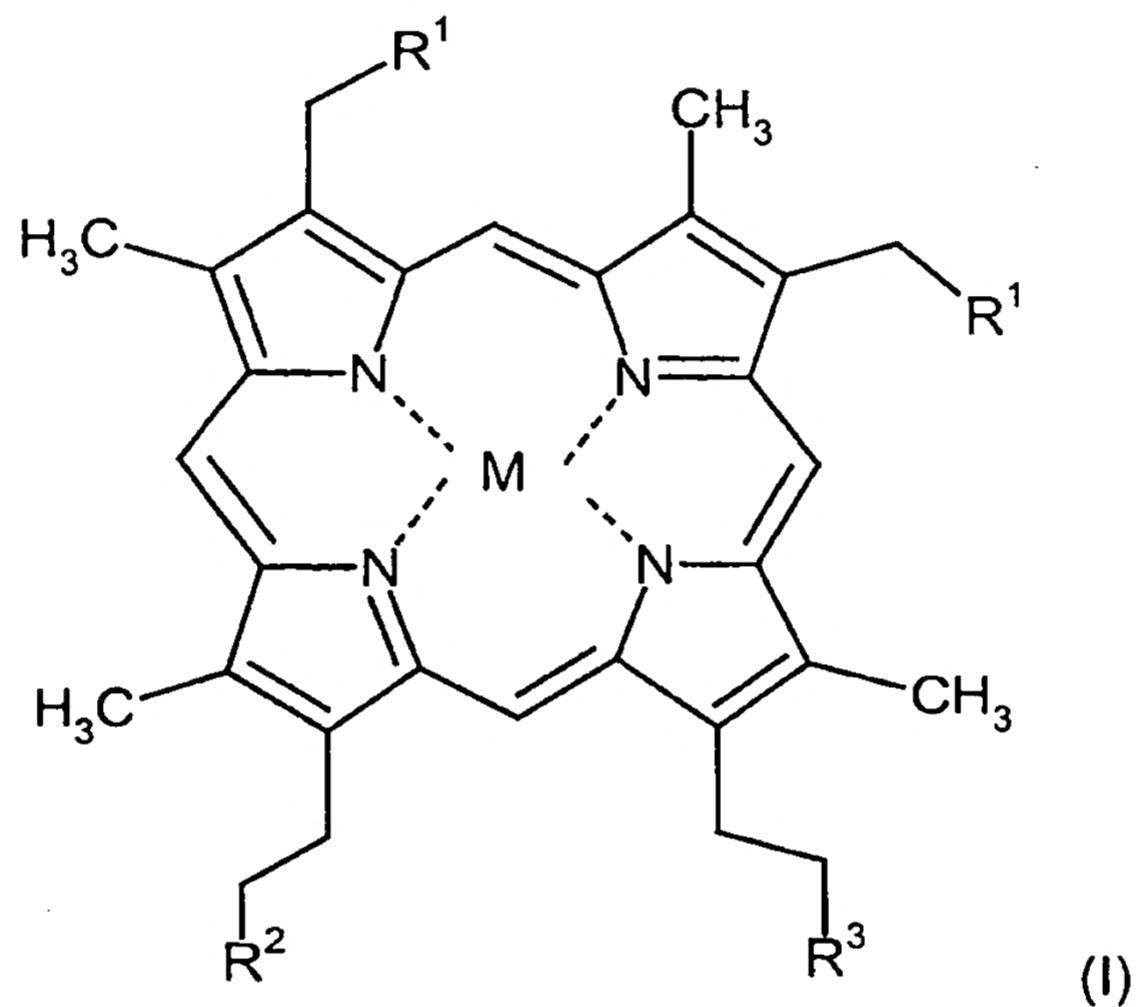
5 In der Tabelle ist die Konzentration angegeben, bei der etwa die Hälfte der Zellen nicht mehr vital ist. (**I** : Beispiel 1 c aus DE 4232925 ; **II** : Titelverbindung aus Beispiel 1 d)

Verbindung	ED ₅₀ [μmol PE/l]
I	6,4
II	5,1



Patentansprüche

1. Verwendung von mindestens einem Porphyrin-Komplex bestehend aus einem
 5 Liganden der allgemeinen Formel I



10

sowie mindestens einem Ion eines Elementes der Ordnungszahl 20-32, 37-39, 42-51
 oder 57-83, worin

M für zwei Wasserstoffatome oder ein diamagnetisches Metall,

R¹ für ein Wasserstoffatom, für einen geradkettigen C₁-C₆-Alkylrest, einen C₇-C₁₂-Aralkylrest oder für eine Gruppe OR' worin

R' ein Wasserstoffatom oder ein C₁-C₃-Alkylrest ist, steht,

R² für R³, eine Gruppe -CO-Z oder eine Gruppe -(NH)₀-(A)_q-NH-D steht, worin

Z eine Gruppe -OL ist, mit L in der Bedeutung eines anorganischen oder
 organischen Kations oder eines C₁-C₄-Alkylrestes ist,

15

A eine Phenylenoxy- oder eine durch ein oder mehrere Sauerstoffatome unterbrochene C₁-C₁₂-Alkylen- oder C₇-C₁₂ Aralkylengruppe bedeutet,

o und q unabhängig voneinander die Ziffern 0 oder 1 bedeuten und

5 D ein Wasserstoffatom oder eine Gruppe -CO-A-(COOL)₀-(H)_m bedeutet, mit m gleich 0 oder 1 und unter der Maßgabe, daß die Summe aus m und o gleich 1 ist,

R³ für eine Gruppe -(C=Q)(NR⁴)₀-(A)_q-(NR⁵)-K steht,

worin Q für ein Sauerstoffatom oder für zwei Wasserstoffatome steht,

10 R⁴ eine Gruppe -(A)_q-H bedeutet und

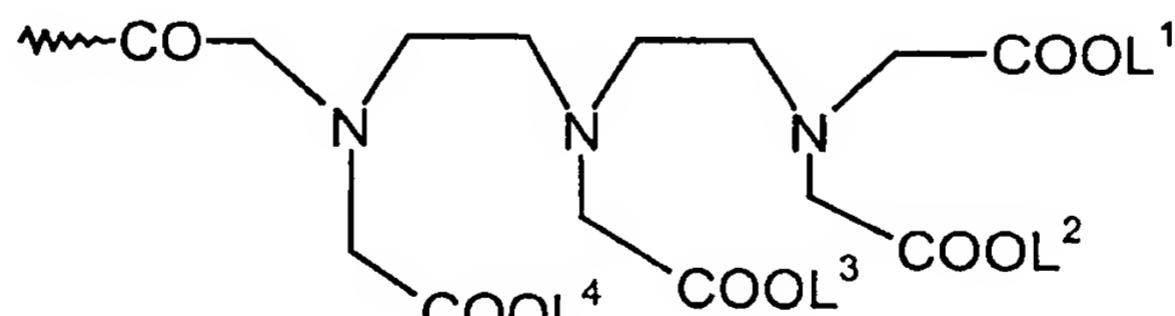
K einen Komplexbildner der allgemeinen Formel (IIa), (IIb), (IIc), (IId) oder (IIe) bedeutet, wobei R⁵ für den Fall, daß K ein Komplexbildner der Formel (IIa) ist die gleiche Bedeutung wie R⁴ hat und R⁵ für den Fall, daß K ein Komplexbildner der Formel (IIb), (IIc), (IId) oder (IIe) ist, die gleiche

15 Bedeutung wie D hat,

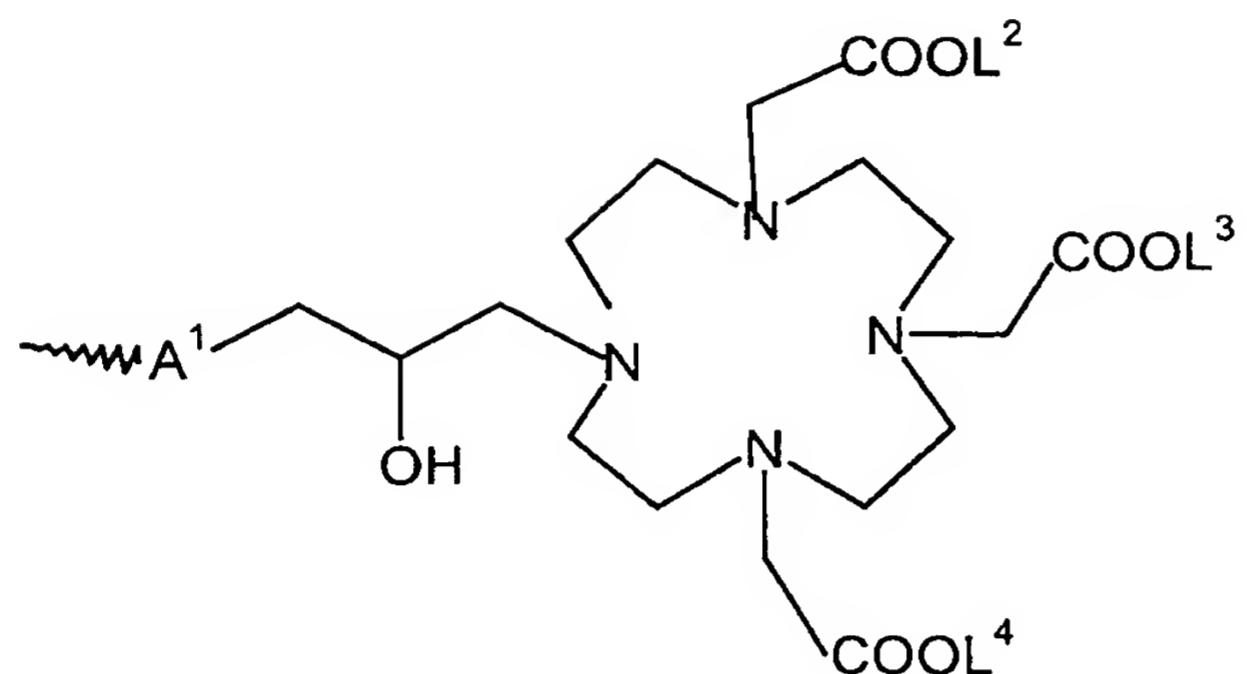
mit der Maßgabe, daß eine direkte Sauerstoff-Stickstoff Bindung nicht zugelassen ist,

und K für einen Komplexbildner der allgemeinen Formel (IIa), (IIb), (IIc), (IId) oder (IIe)

20

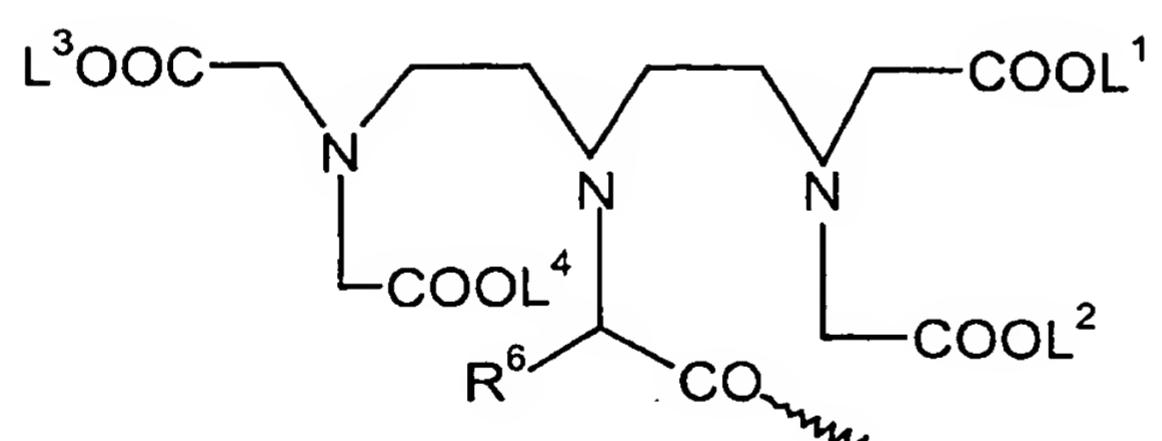


(IIa)



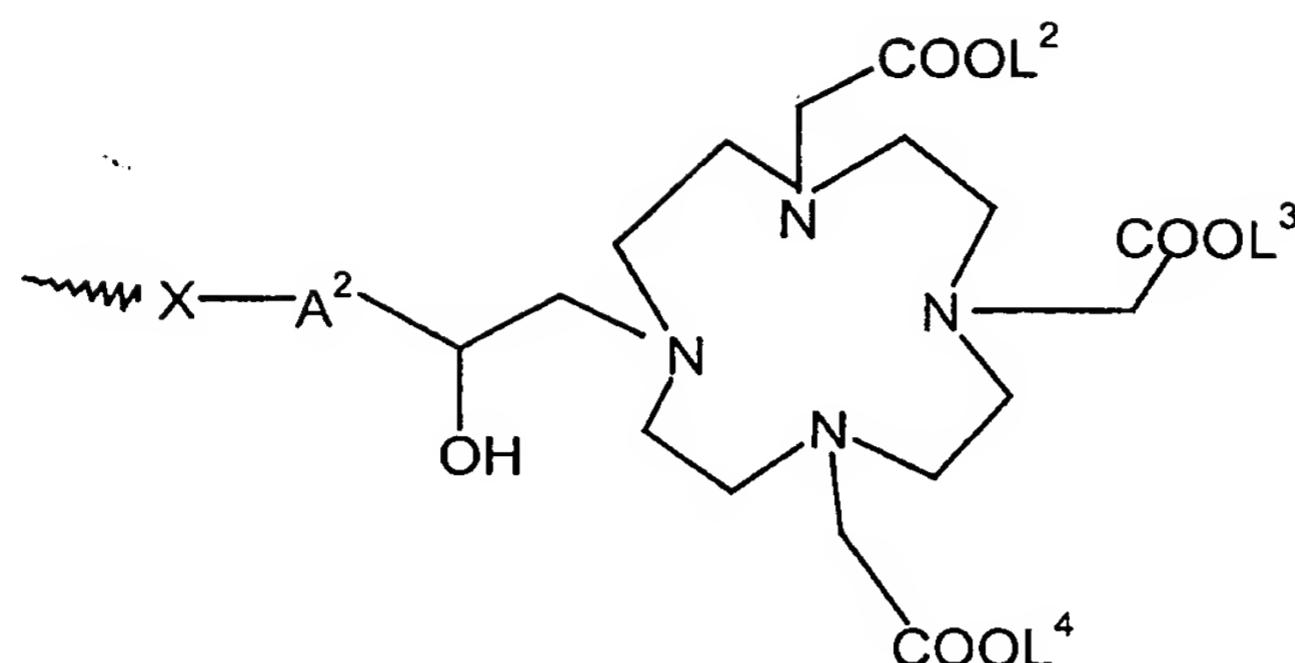
(IIb),

5

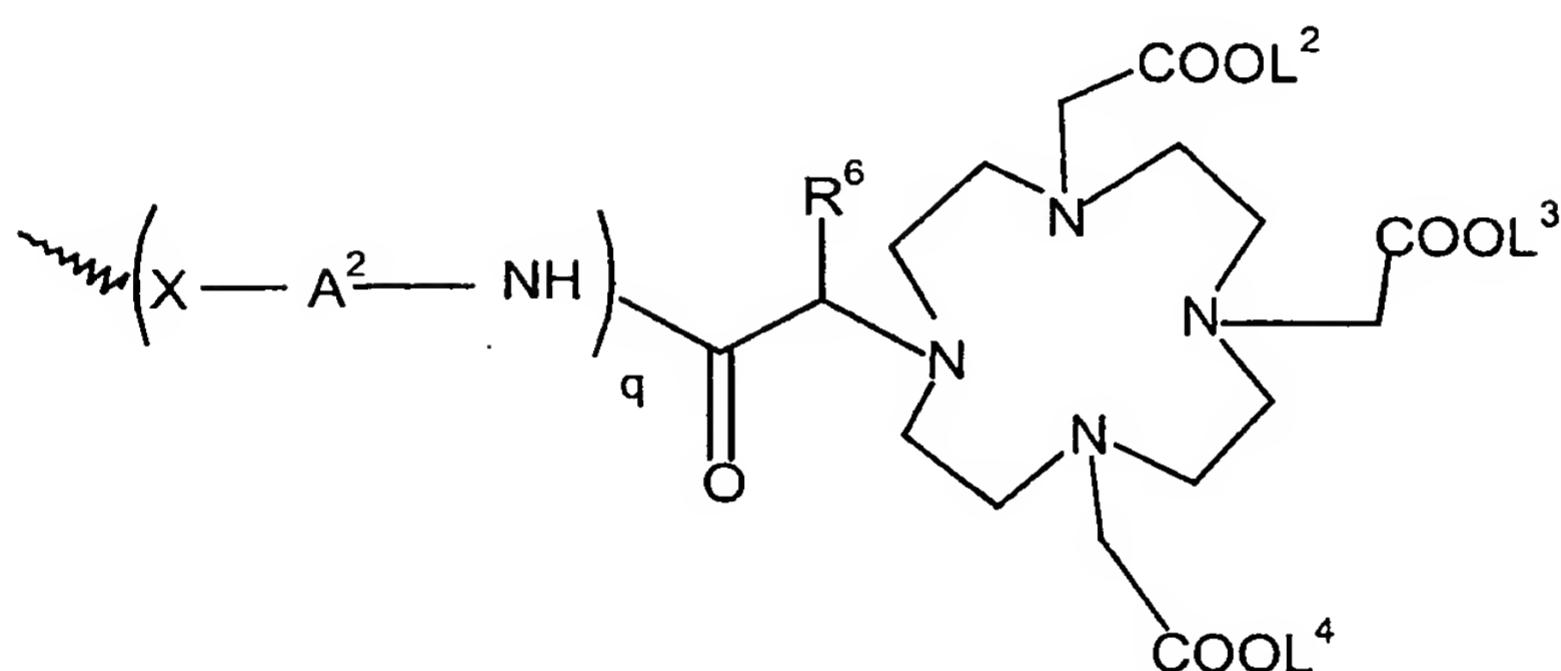


(IIc),

10



(IId),



(IIe),

5 steht,

worin

q die oben angegebene Bedeutung hat,

A¹ die für A angegebene Bedeutung hat,

R⁶ für ein Wasserstoffatom, eine geradkettige oder verzweigte C₁- C₇-

10 Alkylgruppe,

eine Phenyl- oder Benzylgruppe,

A² für eine Phenyl-, -CH₂-NHCO-CH₂-CH (CH₂COOH) -C₆H₄-β,

Phenoxy-

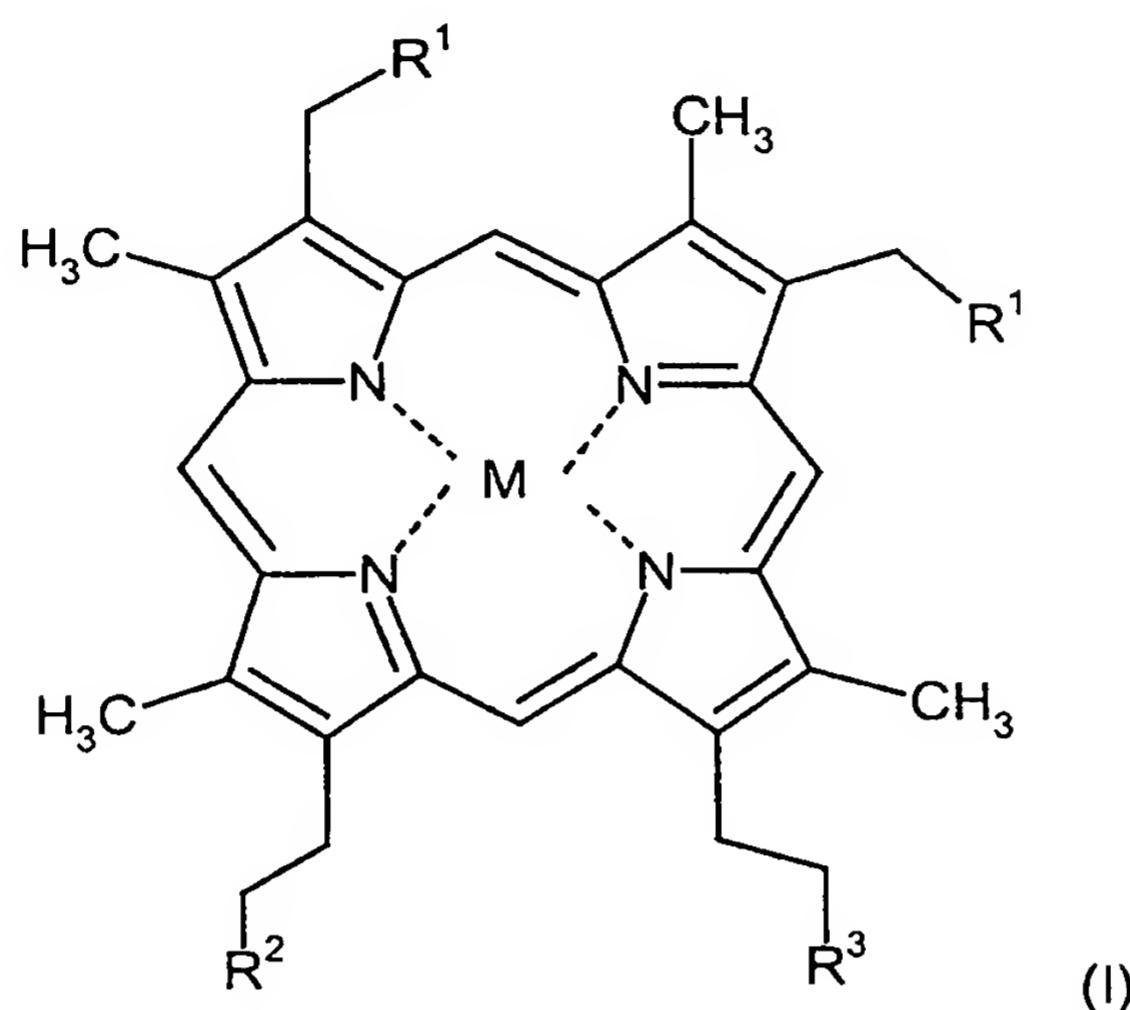
oder eine gegebenenfalls durch ein oder mehrere Sauerstoffatome,
1 bis 3-NHCO-, 1 bis 3 -CONH-gruppen unterbrochene und/oder mit
1 bis 3-(CH₂)₀₋₅COOH-Gruppen substituierte C₁-C₁₂-Alkylen- oder C₇-C₁₂-
Alkylengruppe, wobei β für die Bindungsstelle an X steht,
5 X für eine -CO- oder NHCS-gruppe und
L¹, L², L³ und L⁴ unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder ein
Metallionenäquivalent eines Elements der oben genannten Ordnungszahl steht,
unter den Maßgaben, daß mindestens zwei dieser Substituenten für
Metallionenäquivalente stehen, und daß zum Ausgleich gegebenenfalls
10 vorhandener Ladungen im Metalloporphyrin weitere Anionen vorhanden sind
und worin freie, nicht zur Komplexierung benötigte Carbonsäuregruppen auch
als Salze mit physiologisch verträglich anorganischen und/oder organischen
Kationen oder als Ester oder als Amide vorliegen können,
15 für die Herstellung von Mitteln für die photodynamische Therapie (PDT).

2. Verwendung von Verbindungen gemäß Formel I von Anspruch 1 für die
Herstellung von MRI-diagnostischen Mitteln für die Therapiekontrolle in der PDT.

20 3. Komplex-Verbindungen gemäß Formel I von Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
daß M für ein Zn²⁺, Sn²⁺, Sn⁴⁺, Cd²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, Lu³⁺, In³⁺, B³⁺ oder Ga³⁺-Ion
steht.

25 4. Verwendung von Porphyrin-Komplex-Verbindungen der allgemeinen Formel I
gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R² und R³ jeweils für eine
-CONHNHK, -CONH(CH₂)₂NHK, -CONH(CH₂)₃NHK, -CONH(CH₂)₄NHK,
-CONH(CH₂)₂O(CH₂)₂NHK-Gruppe stehen.

5. Porphyrin-Komplex-Verbindungen, bestehend aus einem Liganden der allgemeinen Formel I



5 sowie mindestens einem Ion eines Elementes der Ordnungszahl 20-32, 37-39, 42-51 oder 57-83, worin

M für zwei Wasserstoffatome oder ein diamagnetisches Metall,

R¹ für ein Wasserstoffatom, für einen geradkettigen C₁-C₆-Alkylrest, einen C₇-C₁₂-Aralkylrest oder für eine Gruppe OR' worin

10 R' ein Wasserstoffatom oder ein C₁-C₃-Alkylrest ist, steht,

R² für R³, eine Gruppe -CO-Z oder eine Gruppe -(NH)₀-(A)_q-NH-D steht, worin

Z eine Gruppe -OL ist, mit L in der Bedeutung eines anorganischen oder organischen Kations oder eines C₁-C₄-Alkylrestes ist,

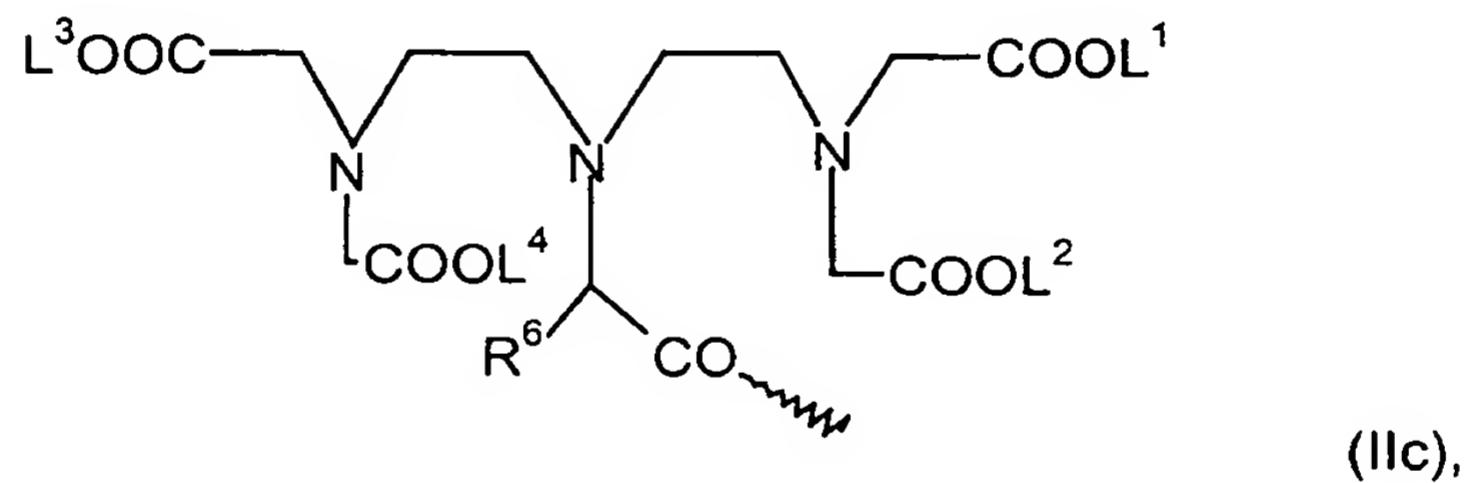
15 A eine Phenyleneoxy- oder eine durch ein oder mehrere Sauerstoffatome unterbrochene C₁-C₁₂-Alkylen- oder C₇-C₁₂ Aralkylengruppe bedeutet,

o und q unabhängig voneinander die Ziffern 0 oder 1 bedeuten und

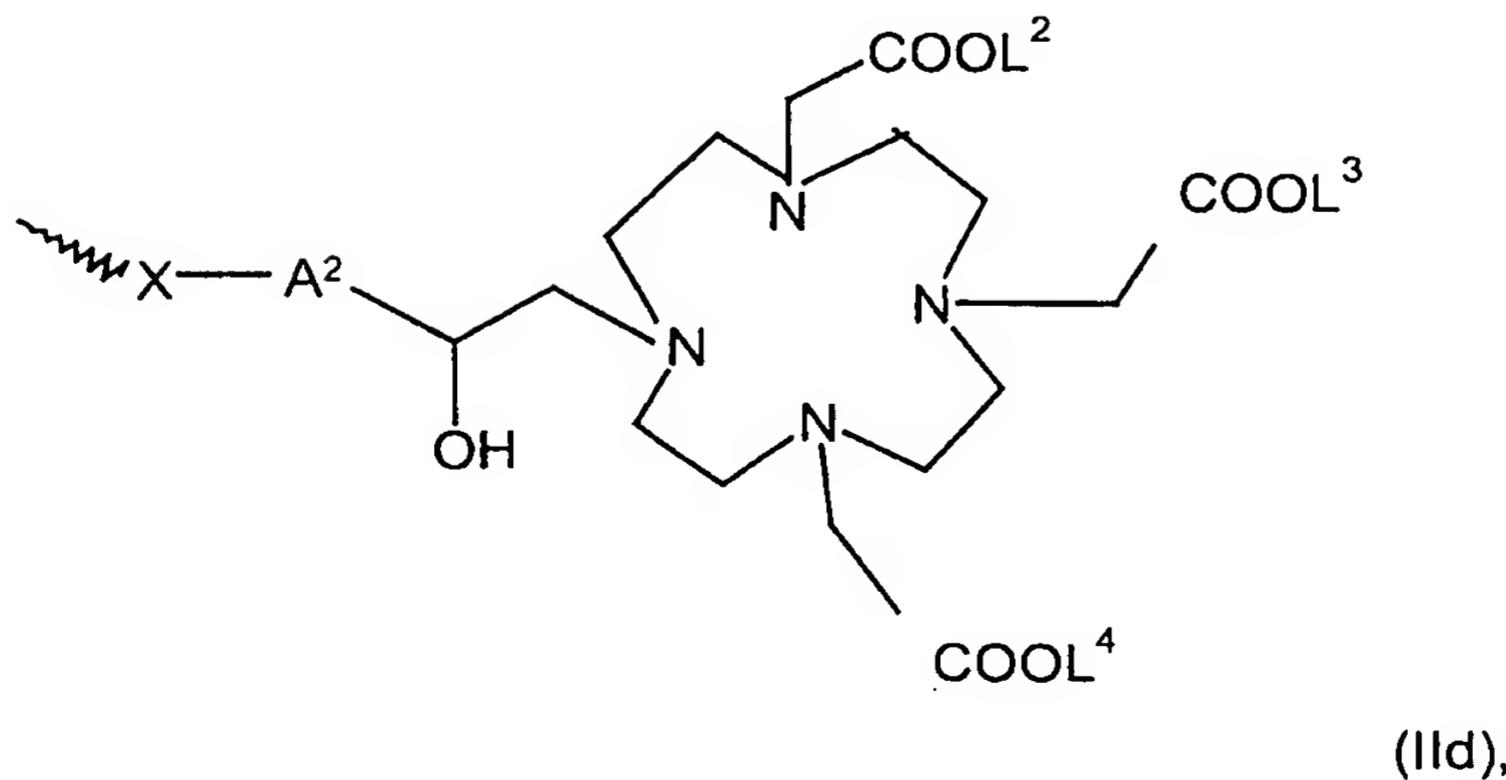
D ein Wasserstoffatom oder eine Gruppe $-\text{CO}-\text{A}-(\text{COOL})_0-(\text{H})_m$ bedeutet, mit m gleich 0 oder 1 und unter der Maßgabe, daß die Summe aus m und o gleich 1 ist,

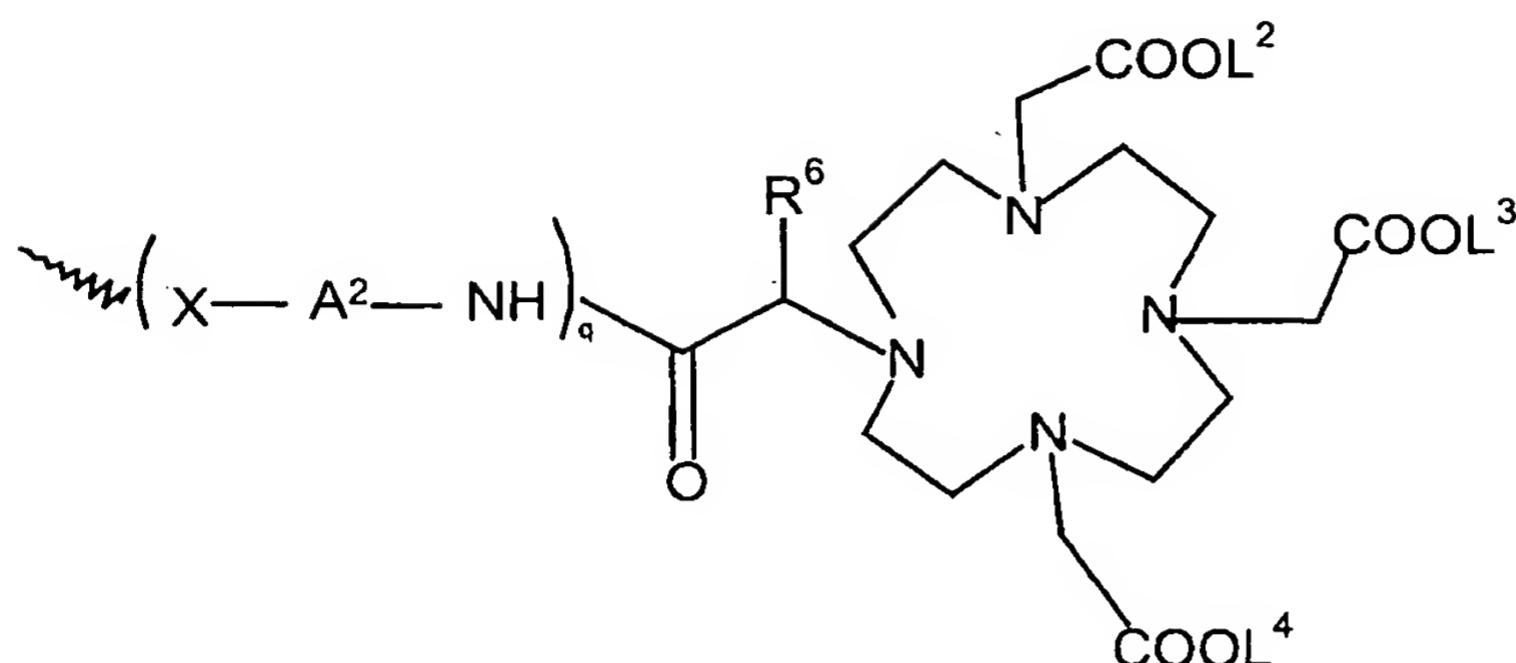
5 R³ für eine Gruppe $-(\text{C}=\text{Q})(\text{NR}^4)_0-(\text{A})_q-(\text{NR}^5)-\text{K}$ steht, worin Q für ein Sauerstoffatom oder für zwei Wasserstoffatome steht, R⁴ eine Gruppe $-(\text{A})_q-\text{H}$ bedeutet und K einen Komplexbildner der allgemeinen Formel (IIc), (IId) oder (IIe) bedeutet, wobei R⁵ die gleiche Bedeutung wie D hat, mit der Maßgabe,

10 daß
eine direkte Sauerstoff-Stickstoff Bindung nicht zugelassen ist,
und K für einen Komplexbildner der allgemeinen Formel (IIc), (IId) oder
(IIe)



15





(IIe),

worin

5 q die oben angegebene Bedeutung hat,
 A¹ die für A angegebene Bedeutung hat,
 R⁶ für ein Wasserstoffatom, eine geradkettige oder verzweigte C₁- C₇-
 Alkylgruppe,
 eine Phenyl- oder Benzylgruppe,
 10 A² für eine Phenyl-, -CH₂-NHCO-CH₂-CH (CH₂COOH)-C₆H₄-, Phenylenoxy-
 oder eine gegebenenfalls durch ein oder mehrere Sauerstoffatome,
 1 bis 3-NHCO-, 1 bis 3-CONH-gruppen unterbrochene und/oder mit
 1 bis 3-(CH₂)₀₋₅COOH-Gruppen substituierte C₁-C₁₂-Alkylen- oder
 C₇-C₁₂-Alkylengruppe,
 15 X für eine -CO- oder NHCS-gruppe und
 L¹, L², L³ und L⁴ unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder ein
 Metallionenäquivalent eines Elements der oben genannten Ordnungszahl steht,
 unter den Maßgaben, daß mindestens zwei dieser Substituenten für
 Metallionenäquivalente stehen, und daß zum Ausgleich gegebenenfalls
 vorhandener Ladungen im Metalloporphyrin weitere Anionen vorhanden sind
 und worin freie, nicht zur Komplexierung benötigte Carbonsäuregruppen auch

als Salze mit physiologisch verträglich anorganischen und/oder organischen Kationen oder als Ester oder als Amide vorliegen können.

6. Komplexverbindungen gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß A² für
5 eine -CH₂- , -(CH₂)₂- , -CH₂OC₆H₄-β , -CH₂OCH₂- , -C₆H₄- ,
CH₂-NHCO-CH₂-CH(CH₂COOH) -C₆H₄-β-Gruppe steht, wobei β für die Bindungsstelle an X steht.
7. Komplex-Verbindungen gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß X für
10 eine CO-Gruppe steht.
8. Komplex-Verbindungen gemäß Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß R⁶ für
ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe steht.
- 15 9. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das
{mu-[{16, 16'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl]bis[3,
6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-pentaazahexadecanoato]}
(8-)}digadolinato(2-), Dinatrium eingesetzt wird.
- 20 10. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das
{mu-[{16, 16'-(Zink(II)-7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-
diyl]bis[3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-
pentaazahexadecanoato]}(8-)}digadolinato, Dinatrium eingesetzt wird.
- 25 11. Verwendung gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das
{mu-[{16, 16'-(7, 12-Diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl]bis[3,
6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-pentaazahexadecanoato]}
(8-)}digadolinato(2-), Dinatrium eingesetzt wird.

12. Verwendung gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß das {mu-[{16, 16'-[Zink(II)-7, 12-diethyl-3, 8, 13, 17-tetramethylporphyrin-2, 18-diyl]bis[3, 6, 9-tris(carboxymethyl)-11, 14-dioxo-3, 6, 9, 12, 13-pentaazahexadecanoato

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/03514

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61K31/40 A61K49/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category ^a	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 07894 A (DIAGNOSTIKFORSCHUNG INST ;HILGER CHRISTOPH STEPHAN (DE); MAIER FRA) 14 April 1994 (1994-04-14) cited in the application page 3, line 24 - line 28 examples ----	1-12
X	EP 0 355 041 A (SCHERING AG) 21 February 1990 (1990-02-21) cited in the application page 13, line 11 - line 16 examples -----	1-12

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

^a Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 October 1999

Date of mailing of the International search report

22/10/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Trifilieff-Riolo, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/03514

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9407894	A 14-04-1994	DE 4232925	A	31-03-1994
		EP 0662972	A	19-07-1995
		JP 8504399	T	14-05-1996
		NO 951166	A	27-03-1995
		US 5849259	A	15-12-1998
		ZA 9307194	A	21-04-1994
EP 0355041	A 21-02-1990	DE 3827940	A	01-03-1990
		AT 128138	T	15-10-1995
		AU 622470	B	09-04-1992
		AU 3957089	A	15-02-1990
		DE 58909444	D	26-10-1995
		DK 395289	A	14-02-1990
		ES 2077577	T	01-12-1995
		GR 3017586	T	31-12-1995
		IE 70229	B	13-11-1996
		JP 2160789	A	20-06-1990
		PT 91422	A,B	08-03-1990
		US 5275801	A	04-01-1994

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/03514

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 A61K31/40 A61K49/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)

IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 94 07894 A (DIAGNOSTIKFORSCHUNG INST ;HILGER CHRISTOPH STEPHAN (DE); MAIER FRA) 14. April 1994 (1994-04-14) in der Anmeldung erwähnt Seite 3, Zeile 24 – Zeile 28 Beispiele ----	1-12
X	EP 0 355 041 A (SCHERING AG) 21. Februar 1990 (1990-02-21) in der Anmeldung erwähnt Seite 13, Zeile 11 – Zeile 16 Beispiele ----	1-12

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipes oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

12. Oktober 1999

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

22/10/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Trifilieff-Riolo, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 99/03514

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie			Datum der Veröffentlichung
WO 9407894 A	14-04-1994	DE	4232925 A		31-03-1994
		EP	0662972 A		19-07-1995
		JP	8504399 T		14-05-1996
		NO	951166 A		27-03-1995
		US	5849259 A		15-12-1998
		ZA	9307194 A		21-04-1994
EP 0355041 A	21-02-1990	DE	3827940 A		01-03-1990
		AT	128138 T		15-10-1995
		AU	622470 B		09-04-1992
		AU	3957089 A		15-02-1990
		DE	58909444 D		26-10-1995
		DK	395289 A		14-02-1990
		ES	2077577 T		01-12-1995
		GR	3017586 T		31-12-1995
		IE	70229 B		13-11-1996
		JP	2160789 A		20-06-1990
		PT	91422 A, B		08-03-1990
		US	5275801 A		04-01-1994